



UNIVERSITA' DI PISA  
Scuola di Specializzazione  
In Ispezione degli Alimenti di Origine Animale

***Piano Nazionale Residui:  
attività pratica presso il Macello di  
San Miniato nel biennio 2010-2011***

Candidato:

Dott. Alessandra Nencioni

Relatore:

Dott. Roberta Nuvoloni

Relatore:

Dott. Renzo Di Sacco

*ANNO ACCADEMICO 2011-2012*

## INDICE

<b>1</b>	<b>Introduzione .....</b>	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>Il piano nazionale residui .....</b>	<b>8</b>
2.1.1	Origine ed evoluzione del piano nazionale residui. ....	10
2.1.2	Il Piano Nazionale Residui: le origini .....	10
2.1.3	Il Piano Nazionale Residui: evoluzione dal 1989 al 2006 .....	13
2.1.4	Il Piano Nazionale Residui: la programmazione dal 2007 al 2012 .....	18
2.2	Attuazione del PNR .....	23
<b>3</b>	<b>Esecuzione del Piano Nazionale Residui .....</b>	<b>26</b>
3.1	Il campionamento.....	26
3.1.1	Tipi di piano e tipologie di campionamento.....	26
3.1.2	Matrici .....	29
3.1.3	Esame istologico .....	31
3.1.4	Verbale di prelievo .....	36
3.2	Il laboratorio: metodi e tempi di analisi .....	37
3.3	Esiti delle analisi e attività connesse.....	41
<b>4</b>	<b>Attività pratica al macello di San Miniato nel biennio 2010- 2011.....</b>	<b>48</b>
4.1	Materiali e metodi .....	48
4.1.1	Capacità produttiva dello stabilimento.....	48
4.1.2	Campionamento .....	50
4.1.2.1	Giorni di campionamento .....	50
4.1.2.2	Scelta dell'animale da campionare .....	54
4.1.2.3	Matrici e prelievo dei campioni.....	55
4.1.2.4	Il verbale di prelievo e l'invio al laboratorio.....	57

4.2	Programmazione 2010 2011 delle sostanze da ricercare e capi da campionare .....	58
4.3	Risultati relativi all'attività dei "Piano" e " Piano di monitoraggio mediante test istologico" .....	64
4.4	Gestione di positività a seguito di campionamento "Sospetto" "clinico-anamnestico" .....	65
<b>5</b>	<b>Conclusioni .....</b>	<b>71</b>
<b>6</b>	<b>Bibliografia .....</b>	<b>73</b>
<b>7</b>	<b>Ringraziamenti .....</b>	<b>84</b>

# 1 Introduzione

Dalla seconda metà del secolo scorso, per rispondere alla crescente richiesta di prodotti di origine animale, la zootecnia ha dovuto mettere in atto un notevole processo di trasformazione.

Nel dopoguerra si è passati da un allevamento principalmente di “tipo contadino”, con un numero ridotto di capi utilizzati, oltre che per la produzione di alimenti, anche come forza lavoro, ad un allevamento di “tipo intensivo”. Il presupposto fondamentale era quello di aumentare le produzioni con il minimo costo possibile, sfruttando al massimo le potenzialità degli animali, spesso a scapito anche del loro benessere (Moriconi, 2012).

Il desiderio di facili guadagni ha portato gli allevatori ad avvalersi, in aggiunta alle tecniche di miglioramento genetico, con la selezione di soggetti più produttivi, e ai progressi in merito a produzione, trasformazione e conservazione di mangimi e foraggi, anche di principi farmacologicamente attivi, in grado di incrementare il rendimento delle produzioni zootecniche (Cini et al., 2006).

La concezione di profitto a ogni costo ha determinato, negli anni ‘60, ‘70 e ‘80, un aumento delle somministrazioni di farmaci veterinari negli allevamenti, in particolare in quelli intensivi; il farmaco veterinario, oltre che a scopo profilattico e terapeutico, veniva pertanto utilizzato con fine auxinico, quindi con l’intento di favorire l’accrescimento ponderale degli animali. L’incremento nell’uso dei farmaci veterinari come antibiotici, ormoni, tireostatici e anabolizzanti, se da un lato ha portato al miglioramento delle performance degli animali, dall’altro ha creato notevoli problematiche, tra le quali la presenza di residui negli alimenti da loro derivati, potenzialmente pericolosi per la salute del consumatore (Scardino, 2007).

Con il termine di residuo si intende una qualsiasi sostanza che, somministrata ad un animale, permanga nel suo organismo e, conseguentemente, nel prodotto alimentare che ne deriva, sia essa un principio farmacologicamente attivo o un suo metabolita. In tale definizione confluiscono anche quei contaminanti ambientali, quali pesticidi o metalli

pesanti, che possono essere inseriti coscientemente nella filiera produttiva o possono provenire involontariamente dall'ambiente circostante, attraverso la contaminazione delle razioni alimentari o per presenza nell'habitat naturale (Angeletti, 1995).

L'obiettivo generale della politica di sicurezza alimentare dell'Unione Europea è stato da sempre quello di garantire un elevato livello di protezione della salute umana e degli animali tramite un incremento dei controlli sull'intera catena alimentare, ponendo la qualità, indissociabile dalla sicurezza alimentare, al centro delle preoccupazioni (Signorini et al, 2009).

La scoperta, durante i periodici controlli, di farmaci o loro residui in allevamento e nelle derrate alimentari, ha determinato l'emanazione di tutta una serie di norme, sempre più stringenti, che hanno vietato l'utilizzo di alcune molecole o lo hanno ridotto in maniera rilevante. Oltre a ciò, sono stati emanati una serie di piani di monitoraggio e di sorveglianza, sia comunitari che nazionali, per la ricerca mirata dei residui, tanto negli animali in vita, che nei loro prodotti (Scardino, 2007).

Oltre all'interesse dei vari organi legislativi e del mondo scientifico, il problema dei residui negli alimenti di origine animale ha attirato l'attenzione anche dei consumatori.

Gli ultimi anni sono stati caratterizzati da numerose "emergenze alimentari", inerenti antibiotici, anabolizzanti e contaminanti ambientali, tanto da spostare il timore dei consumatori dalla contaminazione batterica verso i possibili residui chimici negli alimenti. Infatti le tossinfezioni alimentari, dovute alla contaminazione da agenti microbici, sono state in passato le principali cause di malattie dovute all'ingestione di alimenti; la tecnologia alimentare e i moderni mezzi per il controllo delle temperature, hanno permesso di ridurre questo fenomeno, che tuttavia non è del tutto scomparso (Cini et al., 2006).

In una recente indagine di Eurobarometro, commissionata dall'Agenzia Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA), è stata valutata l'evoluzione, negli ultimi cinque anni, delle opinioni dei consumatori dei 27 Stati della UE, in merito ai rischi legati agli alimenti (Eurobarometro, 2010).

Secondo tale studio, le preoccupazioni più diffuse sono legate, oltre alla clonazione di animali destinati alle produzioni alimentari, ai residui di pesticidi, alle sostanze residue nella carne, come antibiotici od ormoni, e alle sostanze inquinanti, come il mercurio nel pesce o la diossina nella carne suina.

Circa un terzo dei cittadini della UE dice di essere “molto preoccupato” per la presenza di sostanze residue nella carne, come ormoni e antibiotici (30%) e per quella degli inquinanti, come mercurio e diossina (29%); un ulteriore 40% ritiene di essere “abbastanza preoccupato” in merito a questi problemi. I dati portano a concludere che una larga maggioranza dei consumatori europei, pari a circa il 70%, esprime un certo livello di preoccupazione per questi residui negli alimenti di origine animale.

Rispetto ad un sondaggio condotto nel 2005, dal titolo “Questioni di Rischio” (Eurobarometro, 2006), si evidenzia un aumento del 3% del numero dei consumatori europei che si manifesta “molto preoccupato” per quanto riguarda residui (antibiotici od ormoni nella carne) e sostanze inquinanti (mercurio nel pesce o la diossina nel maiale) (Eurobarometro, 2010).

Pertanto, considerando il notevole interesse dimostrato sia dal legislatore europeo e nazionale, che dal mondo scientifico e dal consumatore in merito ai residui negli alimenti di origine animale, risulta particolarmente interessante avere un quadro generale della attività di controllo attuate presso gli impianti di macellazione del nostro Paese.

Nella presente tesi vengono esposte quelle svolte presso il macello di San Miniato, in attuazione al Piano Nazionale per la ricerca di Residui (PNR) nel biennio 2010-2011.

Tale trattazione riporta, nella sua parte iniziale, alcune informazioni inerenti le origini e l’evoluzione del PNR, dalla sua nascita fino ad oggi, la sua attuazione, le tipologie di piano e campionamento e, nel dettaglio, le modalità di prelievo per ciascuna matrice indagata.

Nella seconda parte sono descritte le attività svolte, durante il biennio 2010-2011, presso il sito di macellazione dal Servizio Veterinario competente.

Grazie alla preziosa collaborazione del Veterinario responsabile dell’esecuzione materiale del PNR nello stabilimento in esame, è stato

possibile argomentare circa i dati inerenti la programmazione delle sostanze ricercate, le matrici e i capi campionati, nonché le date di campionamento e i risultati delle analisi compiute.

Infine viene riportata la gestione di una non conformità di tipo “Sospetto”, con campionamento “clinico-anamnestico”, rilevata nell’ambito del piano.

## **2 Il piano nazionale residui**

Dal 1988, il Ministero della Salute predispone annualmente il “Piano Nazionale per la ricerca dei Residui (PNR)”. Tale programma, di sorveglianza e di monitoraggio, è finalizzato alla ricerca di residui di sostanze chimiche potenzialmente dannose per la salute pubblica, negli animali e negli alimenti che da essi derivano (Guidi, 2009).

Secondo la Direttiva 96/23/CE, per residuo si intende “il residuo di sostanze ad azione farmacologica, di loro prodotti di trasformazione, nonché di altre sostanze che si trasmettono ai prodotti animali e che possono essere nocivi per la salute umana”.

In particolare, con l’attuazione del PNR a livello della produzione primaria e nelle prime fasi di trasformazione dei prodotti di origine animale, si mira a svelare i casi di somministrazione illecita di sostanze vietate e la somministrazione abusiva di quelle autorizzate; inoltre si verifica il rispetto dei limiti massimi di residui (LMR) di farmaci veterinari e delle quantità massime di antiparassitari e contaminanti ambientali fissate dalla normativa comunitaria e nazionale.

Ad oggi, il PNR viene attuato ai sensi del D. Lgs. n. 158/2006, che recepisce le Direttive 96/22/CE e 96/23/CE, entrambe emanate il 29 aprile 1996, con le loro successive modifiche; mentre la prima sancisce il divieto d’utilizzazione di alcune sostanze ad azione ormonica, tireostatica e delle sostanze  $\beta$ -agoniste nelle produzioni animali, la seconda detta le misure di controllo su talune sostanze, sui loro residui negli animali e nei loro prodotti.

Tale decreto inoltre, riporta nell’Allegato I, l’elenco delle sostanze da ricercare suddivise in due categorie distinte. Alla Categoria A appartengono tutte quelle sostanze con effetto anabolizzante e quelle non autorizzate per il trattamento degli animali da reddito; la Categoria B invece, comprende i medicinali veterinari autorizzati e i contaminanti ambientali, come i metalli pesanti e i composti organoclorurati.



Tabella 1: Allegato I, D. Lgs. n. 158/2006

<b>Categoria A – Sostanze ad effetto anabolizzante e sostanze non autorizzate</b>	
1) Stilbeni, loro derivati e loro sali ed esteri	
2) Agenti antitiroidei	
3) Steroidi	
4) Lattoni dell'acido resorcilico (compreso lo zeranolo)	
5) $\beta$ -agonisti	
6) Sostanze incluse nell'All. IV del Regolamento (CEE) n. 2377/90 del Consiglio, del 26 giugno 1990	
<b>Categoria B – Medicinali veterinari e agenti contaminanti</b>	
1) Sostanze antibatteriche, compresi sulfamidici e chinoloni	
2) Altri prodotti medicinali veterinari	
a) antelmintici	
b) coccidiostatici, compresi i nitroimidazoli	
c) carbammati e piretroidi	
d) tranquillanti	
e) antinfiammatori non steroidei (AINS)	
f) altre sostanze esercitanti un'attività farmacologia	
3) Altre sostanze e agenti contaminanti per l'ambiente	
a) composti organoclorurati, compresi i PCB	
b) composti organofosforati	
c) elementi chimici	
d) micotossine	
e) coloranti	
f) altri	

Il Ministero della Salute rappresenta l'Autorità competente preposta alla stesura del piano. In collaborazione con Regioni e Province Autonome, Laboratori Nazionali di Riferimento per i residui e Istituti Zooprofilattici Sperimentali, l'Autorità competente elabora annualmente il PNR tenendo in considerazione i risultati dell'anno precedente, al fine di adottare eventuali variazioni mirate a migliorare l'efficacia del programma di sorveglianza e monitoraggio.

Il PNR viene attuato esclusivamente nelle fasi di produzione primaria e di prima trasformazione dei prodotti di origine animale. La ricerca di residui di sostanze chimiche viene effettuata in allevamenti e macelli di bovini, suini, ovi-caprini, equini, volatili da cortile e conigli, nonché nelle attività primarie e di prima trasformazione riguardanti l'acquacoltura, la selvaggina, il latte, le uova e il miele.

Il PNR di ciascun anno ha inizio il 1° gennaio e termina il 31° dicembre: in questo arco di tempo le Aziende Unità Sanitarie Locali (AUSL) provvedono

ad effettuare i campionamenti secondo le indicazioni ricevute da ciascun Assessorato alla Sanità delle Regioni e delle Province Autonome di Trento e Bolzano che, ricevuto il PNR inviato dal Ministero della Salute, pianificano le attività sul loro territorio di competenza in base all'attività produttiva e al patrimonio zootecnico presente.

### **2.1.1 Origine ed evoluzione del piano nazionale residui.**

#### **2.1.2 Il Piano Nazionale Residui: le origini**

Il nostro paese è stato uno dei primi membri dell'Unione Europea ad affrontare il problema dei residui negli animali e nei prodotti da essi derivati. Fin dagli anni '60 il Ministero della Sanità ha vietato, con l'emanazione della Legge n. 4 del 3 febbraio 1961, l'utilizzo degli estrogeni come fattori di crescita o di neutralizzazione sessuale negli animali, le cui carni e prodotti fossero destinati all'alimentazione umana. Il legislatore, in questi anni, si rese conto che tali composti ormonali erano utilizzati con finalità economiche: in particolare le somministrazioni di estrone, estradiolo e i suoi esteri, etnilestradiolo, dietil-silbestrolo, esadiene, esestrolo ecc. venivano praticate con il fine di aumentare la produzione di latte nelle bovine, per indurre la cosiddetta castrazione chimica in polli e verri, per la soppressione dell'estro nelle giovani scrofe e come fattore di crescita nei giovani bovini da carne (Giardina, 1960).

Gli "inconvenienti" che si verificarono nei consumatori in seguito all'ingestione di prodotti derivanti da animali trattati con queste molecole, secondo quanto riportato nel disegno di legge presentato dall'allora Ministro della Sanità Giardina, furono lievi disturbi quali nausea, vomito e vertigini, fino ad arrivare a disfunzioni di carattere endocrino nei bambini, obesità, idro-adiposi, metrorragie e aborti nelle donne, nonché femminilizzazione in addetti alle manipolazioni; inoltre, in questi anni, venne confermato il sospetto che gli estrogeni, a seguito di somministrazioni prolungate, potessero provocare il cancro in animali da esperimento (Giardina, 1960).

Qualche anno dopo, con il Decreto Ministeriale del 15 gennaio 1969, fu vietato agli allevatori di detenere o somministrare agli animali sostanze ad azione ormonale o antiormonale; successivamente, con il Decreto

Ministeriale del 3 novembre 1981, venne proibita la vendita dei medicinali per uso veterinario contenenti sostanze stilbeniche, loro derivati, sali ed esteri, e sostanze tireostatiche. Fino a questo momento le modalità particolareggiate di controllo degli animali e delle carni fresche per la ricerca di residui, la frequenza dei campionamenti sugli animali o sulle carni, la ricerca di residui e le quantità massime consentite erano disciplinate in maniera diversa negli Stati membri che applicavano la propria normativa nazionale. Il Consiglio della Comunità Europea, nella seconda metà degli anni '80, ritenne pertanto necessario trovare una soluzione globale in merito ai controlli da effettuare per la ricerca di residui negli animali da allevamento, nelle carni e nei prodotti a base di carne, siano questi prodotti destinati al mercato nazionale o agli scambi intracomunitari. La ricerca dei residui, che fino a questi anni era stata sostanzialmente limitata, ricevette un impulso definitivo con la scelta da parte della Comunità Europea, di attivare un programma di campionamenti da eseguirsi in tutti gli Stati membri (Angeletti, 1995). Tale programma prevedeva un monitoraggio indirizzato a verificare l'impiego del farmaco veterinario, delle sostanze ad azione anabolizzante e la presenza dei contaminanti ambientali.

Con l'emanazione della Direttiva 86/469/CEE del 16 settembre 1986, la Comunità Europea stabilì che ciascun Stato membro dovesse elaborare, tenendo conto della propria situazione specifica, un piano annuale di controllo.

Entro il 31 dicembre 1987 doveva essere predisposto un piano di controllo per quanto concerne gli stilbeni, derivati dello stilbene, loro sali ed esteri, sostanze tireostatiche, altre sostanze ad azione estrogena, androgena o gestagena e sostanze autorizzate, conformemente all'articolo 4 della Direttiva 81/602/CEE ed all'articolo 2 della Direttiva 85/649/CEE.

Entro il 31 dicembre 1988 doveva essere predisposto, in aggiunta al precedente, il piano per la ricerca di antibiotici, sulfamidici e altre sostanze antimicrobiche analoghe, cloramfenicolo, sostanze impiegate contro endo ed ectoparassiti, tranquillizzanti e beta-bloccanti, altri farmaci veterinari, contaminanti presenti nei mangimi e nell'ambiente.

In tali piani ciascun stato membro, fu chiamato a indicare, secondo quanto precisato nell'articolo 4:

- ✓ la legislazione riguardante divieto, autorizzazione, distribuzione e immissione sul mercato di tali sostanze, comprese le norme riguardanti la loro somministrazione;
- ✓ gli organismi coinvolti nell'esecuzione di tale attività, la loro natura e importanza;
- ✓ l'elenco dei laboratori riconosciuti con indicazione della loro capacità di trattamento dei prelievi;
- ✓ l'elenco delle sostanze da ricercate, i metodi di analisi, nonché le norme relative all'interpretazione dei risultati;
- ✓ il numero di campioni ufficiali da prelevare in relazione al quantitativo di animali macellati per le specie in questione durante gli anni precedenti;
- ✓ le precisazioni relative alle norme per l'esecuzione dei campioni ufficiali;
- ✓ le misure previste dalle autorità competenti in caso di positività.

L'anno 1988 fu un anno di passaggio: i controlli vennero eseguiti in conformità al "Piano italiano per il controllo dei residui di sostanze ormonali ed antiormonali negli animali e nelle carni fresche" in attuazione alla Direttiva 86/469/CEE e reso operante con la Circolare ministeriale n. 12 del 8 febbraio 1988, e secondo la programmazione nazionale in continuità con la vigilanza attuata negli anni precedenti. La principale differenza tra i due piani, denominati rispettivamente "Piano CEE" e "Piano nazionale", riguarda la scelta dei soggetti da campionare: mentre nel primo si segue il criterio di assoluta casualità, nel secondo si procede ad un controllo di massa con il prelievo di campioni in caso di trattamento illecito sospetto (Circolare ministeriale n. 12 del 8 febbraio 1988).

Secondo quanto riportato nella circolare, in questo anno più del 90% dei campioni prelevati in attuazione del "Piano CEE" venne destinato alla ricerca di sostanze stilbeniche, loro derivati, sali ed esteri, tireostatici ed altre sostanze ad azione estrogena, androgena e gestagena; la restante parte fu destinata alla ricerca di sostanze autorizzate a scopo terapeutico tra cui testosterone, progesterone ed estradiolo. Solamente il 9% dei campioni, da

prelevare unicamente in sede di macellazione, interessò la specie suina: la restante parte fu dedicata interamente alla ricerca di residui nei bovini.

### **2.1.3 Il Piano Nazionale Residui: evoluzione dal 1989 al 2006**

Con il trascorrere degli anni assistiamo ad una sostanziale evoluzione nel monitoraggio e nella sorveglianza in questo settore.

Nel 1989, in aggiunta al piano attuato nell'anno precedente, venne programmato ed eseguito il piano per la ricerca di antibiotici, sulfamidici e sostanze antimicrobiche analoghe, cloramfenicolo, molecole contro endo ed ectoparassiti, tranquillanti e beta-bloccanti, altri farmaci veterinari, contaminanti presenti nei mangimi e nell'ambiente. La ricerca di questi ultimi, ed in particolare di metalli, PCB e organoclorurati, venne effettuata anche in ovini, caprini e equini. Il numero complessivo di analisi, a differenza del 1998, venne ripartito equamente tra la specie suina e bovina (Galarini e Antonini, 2006).

Nel 1990 si assisté ad un aumento considerevole dei controlli inerenti le sostanze appartenenti alle Categorie A I e A II dell'Allegato I della Direttiva 86/469/CEE che comprendono stilbeni, loro derivati, sali e esteri, tireostatici, altre sostanze ad azione estrogena, androgena e gestagena e quelle sostanze autorizzate in Italia a scopo terapeutico come testosterone, progesterone e estradiolo. Vennero eseguiti per la ricerca di tali sostanze, 4350 campionamenti in più rispetto all'anno precedente, per un totale di 12000 controlli, e si introdusse la ricerca del 19-nortestosterone (Galarini e Antonini, 2006).

Nel 1991, visti i numerosi casi di positività rilevati l'anno precedente in merito al clenbuterolo, vennero aumentati i controlli di questa sostanza e di altre appartenenti alla stessa classe; sempre in questo anno vennero intensificati i controlli in merito al 17-beta-estradiolo, testosterone e progesterone (Galarini e Antonini, 2006).

A partire dal 1° gennaio 1992, si assiste ad una sostanziale rivoluzione: l'entrata in vigore del Regolamento (CEE) n. 2377/90 del Consiglio del 26 giugno 1990 definì una procedura comunitaria per la determinazione dei

limiti massimi di residui dei medicinali veterinari negli alimenti di origine animale. Considerando che in seguito al progresso scientifico e tecnico, diventò possibile rilevare la presenza di tenori sempre più bassi di residui di medicinali veterinari negli alimenti, tale regolamento stabilì i limiti massimi di residui delle sostanze farmacologicamente attive impiegate nei medicinali veterinari per tutti i prodotti alimentari di origine animale, tra cui la carne, il pesce, il latte, le uova e il miele.

Il regolamento indica come “limite massimo di residui” (LMR) la concentrazione massima (espressa in mg/kg o µg/kg sulla base del peso vivo) di residui ammessa negli o sugli alimenti, risultante dall’uso di un medicinale veterinario, consentita legalmente o riconosciuta accettabile dalla Comunità.

Tale introduzione ridimensionò il concetto di “residuo zero”. Le normative fino allora vigenti, lasciavano intendere che nell’alimento analizzato non dovesse esserci presenza di residuo o, in altri termini, che il residuo dovesse essere a livello zero. L’impiego, per la stessa determinazione, di due metodiche analitiche con sensibilità diverse poteva quindi portare a risultati contraddittori, lasciando ampio margine di interpretazione: ciò contrastava con l’obiettivo del legislatore, che si prefiggeva lo scopo di uniformare i controlli in tutto il territorio della Comunità (Angeletti, 1995).

Secondo Angeletti, direttore della struttura complessa di chimica dell’Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, “la determinazione dei limiti massimi residui ha inoltre fornito un’interpretazione decisamente più moderna e realistica sull’impiego di principi farmacologicamente attivi; l’analisi dei dati tossicologici relativi ad un’ampia gamma di farmaci che hanno portato ad individuare per ognuno di essi il rispettivo livello di A.D.I. (*Admissible Daily Intake*), ha portato a concludere che esistono dei livelli tollerabili di residui negli alimenti che non arrecano rischio alcuno per la salute del consumatore”.

Dal 1992, all’interno dell’Agenzia Europea per la Valutazione dei Prodotti Medicinali (EMA), divenne attivo il “Committee for Veterinary Medicinal Products” (CVMP): a questo comitato venne affidato il compito di valutare i farmaci veterinari e stabilire gli appropriati LMR per ciascuna sostanza (Galarini e Antonini, 2006).

Tali valori consentiti di concentrazione possono differire da alimento ad alimento, per la stessa molecola, in considerazione dell'incidenza che i vari alimenti hanno nella dieta media di un consumatore dalle normali abitudini alimentari (Angeletti, 1995).

Per quanto riguarda le sostanze farmacologicamente attive il cui impiego è vietato, è stato deciso, a livello comunitario, di definire delle soglie di rilevabilità comuni e puntuali in tutti i laboratori operanti all'interno della Comunità Europea : tale decisione consentì secondo Angeletti di superare il concetto di “residuo zero” anche per questa tipologia di sostanze.

Il Regolamento (CEE) n. 2377/90, oggi abrogato, prevedeva la suddivisione delle sostanze in 4 categorie presenti in distinti allegati in base alla possibilità di determinazione del LMR. Nel primo allegato erano inserite le sostanze farmacologicamente attive, impiegate nei medicinali veterinari, per le quali era stata possibile la definizione di un LMR; per ciascuna molecola veniva individuato il residuo marcatore, la specie animale, i tessuti campione e i relativi limiti massimi residui; in caso di LMR provvisorio le sostanze venivano inserite con le medesime informazioni nell'Allegato III. Nell'Allegato II erano inserite le sostanze non soggette a un limite massimo di residui con la relativa specie di destinazione e informazioni aggiuntive sulla modalità di utilizzo. Nell'ultimo allegato invece, erano elencate le sostanze farmacologicamente attive per cui non possono essere fissati i LMR.

Nell'anno 1992, in seguito a carenze riscontrate dalla Comunità europea in merito al numero complessivo delle molecole ricercate e alle specie sottoposte a controllo per alcuni residui, la programmazione italiana vide, tra le maggiori novità, l'aumento sia dei campioni sia del numero di molecole di  $\beta$ -agonisti da ricercare; vennero inseriti, inoltre, nuovi metodi analitici per loro determinazione (Galarini e Antonini, 2006).

A causa di scarse informazioni a disposizione circa i risultati dell'attività di questo anno, la programmazione per il 1993 non presentò rilevanti modifiche circa il numero dei campioni da eseguire e le sostanze da ricercare (PNR, 1993).

Nel 1994 la ricerca di residui viene estesa al settore dei prodotti di acquacoltura, mentre l'anno successivo viene inserito anche il settore dei

prodotti avicoli. Visto il permanere della problematica inerente i  $\beta$ -agonisti, i campioni prelevati per la ricerca di queste molecole vengono aumentati notevolmente, passando da 2000 a 4800 nel 1995 (Galarini e Antonini, 2006).

Per la prima volta nel 1996 vengono introdotti, come matrici da campionare, il mangime (per la ricerca di furanici, cloramfenicolo, antiparassitari, beta-agonisti e cortisonici) e l'urina (per i cortisonici) (PNR, 1996).

Sempre in questo anno furono emanate due direttive che vennero recepite solo successivamente con il D. Lgs. n. 336 del 4 agosto 1999.

Il Consiglio dell'Unione Europea, visto che le sostanze  $\beta$ -agoniste risultavano essere ampiamente disponibili negli ambienti dell'allevamento favorendo così il loro uso illecito, decise, con la Direttiva 96/22/CE, di mantenere il divieto d'utilizzazione di talune sostanze ad azione ormonica o tireostatica e di estenderlo alle sostanze  $\beta$ -agoniste.

La normativa comunitaria sui controlli dei residui nelle carni non era chiara, con conseguenti diverse interpretazioni negli Stati membri. La Comunità aveva urgentemente bisogno di un sistema efficace e uniforme di controlli e chiese agli Stati membri di rafforzare la sorveglianza e i controlli sull'impiego di sostanze illecite nelle carni con la Direttiva 96/23/CE del Consiglio del 29 aprile 1996, concernente le misure di controllo su talune sostanze e sui loro residui negli animali vivi e nei prodotti derivati. Il piano di sorveglianza dei residui, secondo l'Allegato III della precedente direttiva, mira pertanto ad esaminare e porre in evidenza le ragioni dei rischi di residui nei prodotti alimentari di origine animale a livello di allevamento, mattatoio, industria lattiero-casearia, stabilimenti di produzione e trasformazione dei prodotti ittici e dei centri di raccolta ed imballaggio uova.

Con tale direttiva i responsabili, i produttori e tutti gli operatori del settore dell'allevamento vennero responsabilizzati in merito alla qualità e all'innocuità delle carni destinate al consumo umano; queste figure erano tenute ad adottare, da questo momento in poi, tutte le disposizioni necessarie per accettare soltanto animali o prodotti che non contengano residui superiori ai limiti massimi autorizzati e tracce di sostanze o prodotti vietati.



Nel 1997 il Ministero della Salute, tenendo conto delle indicazioni della Direttiva 96/23/CEE, predispose un piano di ricerca dei residui secondo la nuova classificazione delle sostanze da ricercare presente nell'Allegato I nella specie bovina, ovi-caprina, suina e equina, nel settore avicolo, nella selvaggina d'allevamento e nell'acquacoltura (PNR, 1997).

L'anno successivo vennero introdotte, come matrici da campionare, il latte e le uova (PNR, 1998), nel 1999 il miele (PNR, 1999).

Il PNR del 2000 non poteva non tenere conto del grosso scandalo della diossina nei mangimi: venne inserita la ricerca di diossine, per un totale di 200 campionamenti, e vennero indicati esattamente i sette congeneri di policlorobifenili da ricercare. I campioni destinati alla ricerca dei PCB furono 1000 (PNR, 2000).

Negli anni 2001-2002 vennero inseriti i controlli su latte di bufala (in particolare antibiotici e sulfamidici, cloramfenicolo, antiparassitari benzimidazolici, avermectine e aflatossina M1 (PNR, 2001)), latte ovino (per la ricerca di piretroidi), muscolo di suino per tetracicline e chinolonici, volatili da cortile per il cloramfenicolo e chinolonici (Galarini e Antonini, 2006).

Grazie al progresso della scienza, fu possibile inserire nel 2003 la ricerca di metaboliti dei nitrofurani: la matrice scelta per la determinazione di queste sostanze fu il muscolo. Furono riscontrate numerose positività in prodotti contenenti pesce e pollame provenienti soprattutto da paesi terzi (Galarini e Antonini, 2006).

Tra le modifiche degne di nota, troviamo, per l'anno 2004, l'inserimento della ricerca di PCB "diossina simili" e l'estensione del numero di congeneri dei policlorobifenili da 7 a 18; la ricerca del cadmio iniziata nel 1999 in fegato e muscolo degli equini, venne estesa a tutto il territorio nazionale (Galarini e Antonini, 2006).

Nel 2005, oltre ad assistere ad un ulteriore incremento delle ricerche da effettuare in base a specifiche richieste della Comunità Europea, venne eliminato il campionamento casuale: da questo momento in poi i campioni su animali e prodotti da loro derivati vennero prelevati in modo mirato o su sospetto, in seguito a positività analitiche o riscontri clinico-anamnestici (PNR, 2005).

A causa dell'elevato livello di contaminazione da cadmio nei fegati equini di qualsiasi età ed origine, alla fine di questo anno fu decisa l'esclusione dal consumo umano del fegato e dei reni equini. A seguito di ciò, nel PNR 2006 il monitoraggio e la ricerca di questo contaminante ambientale fu effettuata esclusivamente nel muscolo (PNR, 2006).

#### **2.1.4 Il Piano Nazionale Residui: la programmazione dal 2007 al 2012**

Il Piano Nazionale Residui per l'anno, 2007 si strutturò tenendo conto delle prescrizioni del D. Lgs. n. 158 del 16 marzo 2006 e secondo le indicazioni della Decisione della Commissione n. 98/179/CE del 23 febbraio 1998 per le procedure di prelievo ufficiale e gestione dei campioni (PNR, 2007).

Il D. Lgs. n. 158 fu emanato in attuazione della Direttiva 2003/74/CE concernente il divieto di utilizzazione di talune sostanze ad azione ormonica, tireostatica e delle sostanze beta-agoniste nelle produzioni animali, e inoltre dettava le misure di controllo su talune sostanze e sui loro residui negli animali vivi e nei loro prodotti. Tale norma nazionale, che abrogava il D. Lgs. n. 336 del 4 agosto 1999 e la Legge n. 4 del 3 febbraio 1961, aveva lo scopo di esaminare e mettere in evidenza le ragioni dei rischi di residui negli animali e nei loro prodotti a livello di allevamenti, mattatoi, industrie lattiero-casearie, stabilimenti di produzione e trasformazione del pesce e dei centri di raccolta e imballaggio delle uova. Al Ministero della Salute rimase il compito della programmazione dei controlli: entro il 31 marzo di ogni anno doveva essere presentato il programma dettagliato della ricerca di residui appartenenti alle varie categorie per l'anno successivo. Ogni sei mesi inoltre la Commissione europea e gli altri Stati membri devono essere informati in merito all'esecuzione e ai risultati del piano.

L'anno successivo alla sua emanazione questa norma fu modificata dal D. Lgs. n. 232 del 9 novembre 2007. Il divieto di somministrazione, detenzione in azienda, immissione sul mercato, trasformazione e importazione di animali e prodotti dell'acquacoltura da Paesi terzi fu esteso a qualsiasi altra sostanza con effetto anabolizzante, oltre ai già previsti tireostatici, stilbeni e derivati dello stilbene, loro sali ed esteri, estradiolo-17 beta e suoi derivati

sotto forma di esteri, sostanze beta-agoniste e sostanze ad azione estrogena (diverse dall'estradiolo-17 beta e dai suoi derivati sotto forma di esteri) androgena o gestagena. Rimase tuttavia la possibilità di utilizzo di alcune di queste sostanze ai fini del trattamento zootecnico, per indurre l'estro e l'inversione sessuale di avannotti d'acquacoltura.

Inoltre venne modificato l'allegato contenente le indicazioni inerenti la "Categoria di residui o di sostanze da ricercare a seconda del tipo di animali, loro alimenti e acqua di abbeveraggio e del tipo di prodotti animali di origine primaria" (D. Lgs. n. 232 del 9 novembre 2007).

Tenendo in considerazione le non conformità riscontrate nel corso dei due anni precedenti, il PNR 2007 vide un aumento di campioni per la ricerca di: cortisonici, zeranolo e metaboliti, clenbuterolo e clenbuterolo-simili, nitroimidazolici, cloramfenicolo, metaboliti dei nitrofurani, sostanze antibatteriche compresi sulfamidici e chinolonici, coccidiostatici, pesticidi organoclorurati, verde malachite.

Inoltre, fu inserita la ricerca di chinossaline nell'acqua di abbeverata dei conigli e di macrolidi nelle uova e nell'acqua di abbeverata dei bovini (PNR, 2007). La ricerca del nortestosterone nella specie bovina venne limitata esclusivamente ai vitelloni maschi, mentre la ricerca degli steroidi negli ovicapri venne circoscritta al solo trenbolone e suoi metaboliti; vista l'assenza di un limite d'azione comunitario per il piombo nei tessuti degli equini, tale ricerca non fu programmata nell'ambito del PNR di questo anno (PNR, 2007).

Nel 2008 vennero programmate le ricerche dello zilpaterolo nelle urine, dei macrolidi (tilosina) nel tessuto muscolare, in sostituzione dell'acqua di abbeverata, degli organoclorurati nel latte e del mercurio in acquacoltura. In questo anno inoltre venne introdotto l'esame istologico nei bovini per lo *screening* finalizzato alla valutazione di un eventuale impiego illecito di promotori della crescita (PNR, 2008).

In considerazione delle non conformità riscontrate nel corso del 2006 e del primo semestre 2007 furono intensificate le ricerche già incentivate nella programmazione del PNR 2007 ad eccezione dei nitroimidazolici e metaboliti dei nitrofurani; venne aumentato per la prima volta il numero dei

campioni per i più generici antelmintici, le chinossaline e gli elementi chimici (PNR, 2008).

Tra le novità per il 2009 ricordiamo la ricerca di nuove molecole e l'aumento, rispetto all'anno precedente, del numero di campioni da eseguire per la ricerca di alcune tipologie di farmaci e contaminanti (Pertocchi, 2008). Il numero totale di campioni analizzati in questo anno risultò aumentato del 22,9% rispetto al 2008 e del 3,35% rispetto al 2007 (Relazione finale PNR, 2009).

L'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, a seguito della convalida dei metodi di analisi, fu in grado di eseguire le analisi di *screening* e di conferma inerenti i nitroimidazoli nella matrice uova, mentre quello della Sardegna nella matrice latte. L'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna convalidò, nel corso dell'anno, i metodi per i coccidiostatici ionofori nella matrice muscolo di volatili da cortile e bovini, mentre l'istituto dell'Abruzzo e del Molise per il levamisolo nel latte. In merito a questa ultima matrice fu inserita, nella programmazione del 2009, la ricerca del cadmio. Venne inoltre incentivata la ricerca delle sostanze già aumentate l'anno precedente, ad eccezione dello zeranolo e metaboliti, chinossaline e verde di malachite; in aggiunta, fu ampliato il numero di campioni ufficiali per la ricerca dei metaboliti dei nitrofurani e delle aflatossine (PNR, 2009).

In attuazione al piano furono analizzati complessivamente 33.552 campioni; di questi il 46% fu destinato alla ricerca delle sostanze ad effetto anabolizzante e non autorizzate (Categoria A) e la restante parte ai medicinali veterinari e agli agenti contaminanti (Categoria B). Solamente 74 campioni analizzati, pari allo 0,22% del totale, risultò positivo alla ricerca di residui: di questi 28 appartenevano ai residui di Categoria A e 46 alla Categoria B. Tale percentuale di non conformità risultava in diminuzione rispetto a quella riscontrata nel 2008 (63 non conformità pari allo 0,24% del totale di campioni analizzati). Le sostanze antibatteriche, compresi sulfamidici e chinolonici (gruppo B1) rappresentavano la principale causa di non conformità (39,2%) in considerazione anche del maggior numero di campioni analizzati per tale ricerca. A seguire troviamo gli steroidi (A3) ed i contaminanti ambientali (B3). Tale profilo invertiva la tendenza riscontrata

negli anni precedenti, in cui gli ormoni steroidei rappresentavano la principale causa di non conformità. Il settore maggiormente coinvolto dalle non conformità era rappresentato dai bovini, fatto da attribuire senz'altro all'elevato numero di controlli destinato a questo settore (15.803 campioni analizzati, pari al 47,1% del totale) (Relazione finale PNR, 2009).

In considerazione dei dati emersi in precedenza, nel 2010 fu proporzionalmente incrementato il numero di campioni. In particolare venne ampliata la ricerca di cortisonici, progestinici, zeranolo e metaboliti, metaboliti dei nitrofurani, cloramfenicolo, sostanze antibatteriche, compresi sulfamidici e chinolonici, coccidiostatici, antelmintici, composti organoclorurati, compresi i PCB, elementi chimici ed aflatossine (PNR, 2010).

In attuazione del Piano Nazionale per la ricerca dei Residui del 2010 furono effettuate 38.116 analisi, circa il 12% in più rispetto all'anno precedente.

La percentuale delle non conformità in questo anno risultò in lieve aumento; il gruppo B3 (altre sostanze e agenti contaminanti per l'ambiente) rappresentò la principale causa di non conformità (35%). A seguire, ci furono gli steroidi (A3) con il 31% e le sostanze antibatteriche (B1) con il 20%; tale profilo discordava dalle tendenze rilevate negli ultimi anni. Fino al 2008, infatti, la principale causa di non conformità era da attribuirsi agli steroidi, mentre nel 2009 le sostanze antibatteriche, con il loro 39,2% risaltarono su tutti gli altri gruppi. Tra le non conformità per le sostanze di Categoria A, figuravano ancora i cortisonici (desametasone, prednisolone e prednisone); tra le non conformità per le sostanze appartenenti alla Categoria B ritroviamo i metalli pesanti (Relazione finale PNR, 2010).

A causa delle non conformità riscontrate nel 2009 e nel primo semestre del 2010 e considerando le numerose allerte nel settore dei prodotti italiani, il PNR del 2011 ha previsto nei diversi settori produttivi un aumento dei campionamenti per la ricerca di particolari sostanze.

Nei bovini si è incentivata la ricerca di steroidi, lattoni dell'acido resorcilico (compreso lo zeranolo), delle sostanze farmacologicamente attive per le quali non possono essere fissati i LMR (Allegato IV del Regolamento (CEE) n. 2377/90), di beta-agonisti, sostanze antibatteriche compresi sulfamidici e chinolonici, antelmintici, composti organoclorurati, compresi

i PCB. Gli elementi chimici furono ricercati con attenzione particolare in suini, ovi-caprini, equidi, volatili da cortile e conigli. Nei suini inoltre fu previsto un incremento del campionamento per le sostanze incluse nell'Allegato IV del Regolamento (CEE) n. 2377/90, sostanze antibatteriche compresi sulfamidici e chinolonici; lo stesso accadde per i volatili con l'aggiunta di prelievi per coccidiostatici e composti organoclorurati, compresi i PCB. Nel settore dell'acquacoltura vennero programmate analisi aggiuntive per la ricerca dei coloranti, mentre in latte, uova e miele le sostanze antibatteriche, compresi sulfamidici e chinolonici; i primi due tipi di alimenti furono indagati maggiormente per i composti organoclorurati (compresi i PCB), il miele per i composti organofosforati. Nei conigli vennero ricercate con un numero di campioni ufficiali maggiore le sostanze antibatteriche, compresi sulfamidici e chinolonici (PNR, 2011).

L'incremento proporzionale del numero dei campioni descritto per il 2011 sta interessando anche il Piano Nazionale Residui oggi in corso: nella sua programmazione, oltre all'incremento ulteriore del numero dei prelievi, già visto nel 2011, è stato deciso di aumentare i controlli degli elementi chimici nei bovini, delle micotossine nel latte, degli steroidi in suini e equini e delle sostanze antibatteriche e dei pesticidi organoclorurati negli ovi-caprini. L'incremento dei campioni dell'anno precedente, relativo agli organoclorurati nei volatili e degli organofosforati nel miele, ha invece subito un arresto. Tra le numerose nuove ricerche troviamo le diossine e i PCB diossina-simili nel muscolo di ovi-caprini e volatili da cortile (galline), in considerazione del maggior rischio di contaminazione di questi animali (PNR, 2012).

Degna di nota risulta la variazione di categoria dei cortisonici; fino a questo momento queste sostanze venivano inserite nella Categoria A delle "Sostanze ad effetto anabolizzante e sostanze non autorizzate" (in particolare nel gruppo A3 degli Steroidi). Su esplicita richiesta della Commissione europea, nel 2012 i cortisonici passano alla Categoria B dei "Medicinali veterinari e agenti contaminanti" e nello specifico vengono inseriti in "Altri prodotti medicinali veterinari" alla voce "Altre sostanze esercitanti un'attività farmacologia" (B2f) (PNR, 2012).

## **2.2 Attuazione del PNR**

Il piano nazionale di sorveglianza per la ricerca di residui di sostanze chimiche nella produzione primaria (PNR) è attuato sull'intero territorio italiano nel corso di un anno solare.

L'organizzazione di tale attività, la sua programmazione e la sua attuazione, sono frutto della collaborazione di vari organismi, ciascuno dei quali ha specifici ruoli e competenze distinte.

Entro la fine di ciascun anno solare, il Ministero della Salute e, in particolare, la Direzione Generale per l'Igiene e la Sicurezza degli Alimenti e la Nutrizione, è tenuta a predisporre il PNR da realizzare l'anno successivo. La stesura del nuovo PNR deve tener conto degli aggiornamenti scientifici e normativi, delle allerta e non conformità riscontrate nel corso degli ultimi anni, della realtà zootecnica e produttiva attuale, di richieste specifiche della Commissione e delle variazioni delle prestazioni analitiche dei vari laboratori presenti sul territorio (Relazione finale PNR, 2010).

Spetta inoltre a questo organismo, il coordinamento di tutte le attività connesse all'attuazione del PNR e la raccolta dei dati relativi ai campionamenti effettuati. Al fine di una visione globale in ambito Comunitario, il Ministero deve inviare alla Commissione una dettagliata rendicontazione semestrale sull'esecuzione del piano per la ricerca dei residui, svolto sul suo territorio di competenza.

A livello centrale risulta fondamentale, ai fini di una corretta programmazione ed esecuzione del PNR, il ruolo svolto dall'Istituto Superiore di Sanità e dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise, quali Laboratori Nazionali di Riferimento per i Residui (L.N.R.) (PNR, 2012). Essi hanno il compito di assistere l'autorità competente nell'organizzazione del piano di sorveglianza e di coordinare i laboratori deputati a eseguire le analisi. Inoltre, essi organizzano periodiche prove comparative per ciascun residuo o gruppo di residui e garantiscono la diffusione delle informazioni provenienti dai Laboratori Comunitari di Riferimento (L.C.R.) (Caroli, 2002).

A livello territoriale, gli organismi coinvolti nell'esecuzione di tale attività di sorveglianza, sono gli Assessorati alla Sanità delle Regioni e delle

Province Autonome, gli Istituti Zooprofilattici Sperimentali (II.ZZ.SS) e le Aziende Unità Sanitarie Locali (AUSL).

Gli Assessorati alla Sanità delle Regioni e delle Province Autonome hanno il compito di pianificare le attività da svolgere sul territorio regionale, tenendo conto del patrimonio zootecnico e delle realtà produttive locali; sulla base del PNR sviluppato dal Ministero, ciascuna Regione e Provincia Autonoma predispone il proprio Piano Regionale. Entro il 1° Febbraio (PNR, 2012), tali enti devono far pervenire al Ministero il piano di attività regionale, unitamente alla comunicazione del suo avvio. Oltre a coordinare le attività delle AUSL, le Regioni hanno il compito di supervisionare sul loro operato.

Gli II.ZZ.SS sono i laboratori deputati a effettuare le analisi; con le loro 10 sedi centrali e le 90 sezioni diagnostiche periferiche, sono tenuti a svolgere il loro operato, utilizzando metodi accreditati e validati al fine di assicurare la qualità e la comparabilità dei risultati analitici prodotti da ciascun laboratorio nell'ambito del controllo ufficiale per la ricerca dei residui, su tutto il territorio nazionale e comunitario. Le analisi devono essere eseguite garantendo la massima rapidità e il completo anonimato: la tempestiva trasmissione dei risultati analitici risulta di fondamentale importanza al fine di garantire un'efficace e tempestivo intervento in caso di non conformità (PNR, 2012).

Il personale di controllo dei Servizi Veterinari delle AUSL è incaricato del prelievo ufficiale: oltre all'esecuzione del campionamento e alla compilazione del verbale di prelievo è suo compito trasportare e consegnare al laboratorio, il campione in condizioni appropriate e nel più breve tempo possibile. Il personale, qualificato ed esperto, deve ricevere gli aggiornamenti necessari a compiere il proprio lavoro con coerenza e competenza (PNR, 2012).

Ciascuna AUSL nomina annualmente un referente per il PNR: tale figura ha il compito di supervisionare le procedure previste dal piano e accertarsi del suo corretto svolgimento. Il referente per il PNR di ciascuna AUSL, al termine del programma annuale, ha l'incarico di redigere una relazione finale inerente le attività svolte e di trasmettere tale documento all'Assessorato e al Nucleo Operativo Regionale di Vigilanza (NORV).



Al fine di potenziare la capacità d'intervento diretto delle Regioni, l'articolo 11 del D. Lgs. n. 158/2006, prevede la possibilità di istituire il NORV composto dal personale della Regione stessa, delle Aziende Unità Sanitarie Locali (AUSL) e degli II.ZZ.SS.; questo, oltre ad eseguire il prelievo e la preparazione dei campioni, unitamente al personale ufficiale dei Servizi Veterinari della AUSL, riceve la relazione finale del referente per il PNR, con cui collabora strettamente, e funge da collegamento fra organismi centrali e locali.

## 3 Esecuzione del Piano Nazionale Residui

### 3.1 Il campionamento

#### 3.1.1 Tipi di piano e tipologie di campionamento

La verifica della presenza di residui negli alimenti, nell'ambito del PNR, avviene mediante l'esecuzione di tre differenti tipi di attività denominate "Piano", "Extrapiano" e "Sospetto".

Il "Piano" propriamente detto, comporta il prelievo dei campioni programmati nel PNR, inerenti ai diversi settori di interesse.

Il "Piano Nazionale per la Ricerca dei Residui", trasmesso ogni anno dal Ministero della Salute, riporta nel capitolo "Programmazione", per ciascun settore produttivo, le relative tabelle di programmazione.

Vengono indicati per bovini, suini, ovini e caprini, equini, volatili di cortile, conigli, selvaggina allevata, acquacoltura, latte, miele e selvaggina cacciata:

- ✓ i residui da ricercare specificando la categoria e il gruppo di appartenenza (secondo la classificazione presente nell'Allegato I del D. Lgs. n. 158/2006);
- ✓ la sede (macello, allevamento, stabilimento o durante la cacciata), la categoria animale da cui effettuare campionamento, il materiale da prelevare e il numero complessivo di campioni da effettuare su tutto il territorio nazionale;
- ✓ le tecniche di *screening* e quelle di conferma con i relativi limiti di rilevabilità e d'azione.

In base alle caratteristiche specifiche del territorio (come patrimonio zootecnico, vocazione produttiva, flussi e volumi delle macellazioni), la programmazione nazionale, viene suddivisa tra le Regioni e Province Autonome che predispongono e attuano il Piano Regionale Residui (PNR, 2012).

Nella pratica, i campioni da prelevare, vengono scelti dal personale AUSL o dai NORV incaricati di tale compito, tra "gli animali che possono essere considerati potenzialmente a rischio sulla base di alcune caratteristiche, quali specie, sesso, età, tipo di allevamento, momento produttivo, situazione logistica, ecc.": tali campioni vengono definiti "mirati" (PNR, 2012).

Il PNR attualmente in corso, raccomanda di selezionare gli allevamenti, le carcasse e/o i prodotti di origine animale in base a parametri ben precisi.

Per quanto riguarda gli allevamenti, particolare attenzione deve essere posta nella scelta dell'azienda: le informazioni da tenere in considerazione, sono il contesto locale e ogni altro dato utile come l'eventuale sistema di ingrasso, la razza e il sesso degli animali allevati. Il prelievo deve essere effettuato dopo un'attenta valutazione degli animali, osservando in particolare, le caratteristiche sessuali secondarie, la corretta conformazione, i comportamenti anomali, lo sviluppo corporeo in base alla razza e categoria; in aggiunta ai precedenti criteri di selezione, risultano importati le informazioni inerenti l'impiego di farmaci veterinari in azienda.

In sede di macellazione, la scelta dell'animale da sottoporre a campionamento, viene effettuata durante la visita *ante-mortem*; oltre a sesso, età, specie, sistema di allevamento degli animali e alle informazioni relative al produttore, gli addetti al campionamento devono tener conto delle pratiche correnti e delle risultanze negative relative all'utilizzo di sostanze farmacologicamente attive riguardanti l'azienda di origine.

Tali parametri di valutazione vengono utilizzati anche per il campionamento da effettuare presso stabilimenti di trasformazione primaria.

Il Ministero inoltre, raccomanda di evitare i prelievi multipli dallo stesso produttore e di effettuare il campionamento durante l'arco di tutta la settimana (compreso il sabato e la domenica): un campionamento imprevisto e inatteso è alla base della buona riuscita del programma di sorveglianza per la ricerca dei residui negli alimenti di origine animale. In sede di macellazione la programmazione dei campioni deve essere studiata in modo da coprire tutte le giornate di macellazione e non sempre nello stesso giorno della settimana.

In seguito all'esecuzione di tale campionamento "mirato" nell'ambito del "Piano" propriamente detto, non è necessario ricorrere al sequestro cautelativo di animale, carcassa o lotto campionato, a patto che venga garantita la loro rintracciabilità.

In seguito a particolari necessità locali o nazionali, le Regioni e il Ministero hanno l'opportunità di programmare campionamenti "mirati" nell'ambito del piano di controllo denominato "Extrapiano". Le sostanze da ricercare

sono decise sulla base delle indicazioni previste dal PNR e in accordo con gli II.ZZ.SS.: talvolta, l'esecuzione di questi campionamenti aggiuntivi può essere conseguente alla necessità di intensificare i controlli a seguito del rilevamento di non conformità.

Alterazioni cliniche, punti d'iniezione o modificazioni macro e microscopiche di organi o tessuti, comprese notizie anamnestiche, indizi di attività fraudolente, detenzione o possesso di sostanze proibite, sono alcuni dei fattori che possono far sospettare la presenza di residui; a seguito di questi indizi, gli incaricati del prelievo ufficiale eseguono, in ambito del piano denominato "Sospetto", campioni di tipo "clinico-anamnestico".

Infine, qualora a seguito di segnalazioni di esiti diagnostici sospetti al test istologico, si ravvisi la necessità di procedere al prelievo di campioni ufficiali, questi ultimi andranno classificati come campioni di tipo "Sospetto" "Isto-anatomo-patologico".

Secondo quanto riportato nel PNR 2012, all'atto del prelievo di campioni in ambito del piano "Sospetto" si procede al sequestro cautelativo. Lo stesso provvedimento viene adottato qualora si riscontri una non conformità da analisi effettuate in esecuzione dei tre tipi di piano; in questi casi, il personale incaricato procede all'esecuzione di ulteriori campionamenti denominati "A seguito di positività" (PNR, 2012).

Tabella 2: Tavola riassuntiva della strategia di campionamento (PNR, 2012).

Tipo Piano Tipologia Campionamento	PIANO		EXTRAPIANO		SOSPETTO	
	Mirato	A seguito positività	Mirato	A seguito positività	Clinico Anamnestico	A seguito positività
Descrizione	Campione prelevato sulla base della programmazione PNR.	Campione prelevato a seguito di non conformità in un campione mirato di Piano.	Campione prelevato sulla base della programmazione Extrapiano.	Campione prelevato a seguito di non conformità in un campione mirato di Extrapiano.	Campione prelevato al di fuori delle programmazioni, sulla base di indizi sospetti.	Campione prelevato a seguito di non conformità in un campione per sospetto "clinico-anamnestico"
Campione da suddividersi in 4/5 Aliquote	Sì (per la ricerca di sostanze vietate e/o non autorizzate, cortisonici, sostanze antibatteriche compresi sulfamidici e chinolonici);  Negli altri casi, sulla base delle valutazioni del veterinario ufficiale prelevatore o su indicazione regionale.	Obbligatorio	Sì (per la ricerca di sostanze vietate e/o non autorizzate, cortisonici, sostanze antibatteriche compresi sulfamidici e chinolonici);  Negli altri casi, sulla base delle valutazioni del veterinario ufficiale prelevatore o su indicazione regionale.	Obbligatorio	Obbligatorio	Obbligatorio
Sequestro cautelativo	Sulla base delle valutazioni del veterinario ufficiale prelevatore o indicazione regionale.	Obbligatorio	Sulla base delle valutazioni del veterinario ufficiale prelevatore o indicazione regionale.	Obbligatorio	Obbligatorio	Obbligatorio

### 3.1.2 Matrici

Le matrici da prelevare per l'esecuzione delle attività di "Piano" e "Extapiano" e "Sospetto" sono indicate, per ciascun residuo da ricercare, nelle tabelle di programmazione presenti nel PNR di ogni anno. Sono riportate nel dettaglio, inoltre, le modalità con cui gli incaricati del prelievo devono eseguire i campionamenti, affinché il campione possa essere accettato come ufficiale.

Per l'esecuzione della ricerca di residui nelle urine, la matrice deve essere prelevata in allevamento mediante cateterismo vescicale o con contenitori montati su aste e sacchetto monouso; al macello invece tale prelievo deve avvenire direttamente dalla vescica, utilizzando siringhe sterili.

Per quanto riguarda muscolo, fegato e rene ciascuna aliquota è costituita da almeno 100 g di tessuto (Tabella 3); in aggiunta a tale raccomandazione, per il grasso viene indicato come preferibile quello perirenale. Per tiroide e bulbi oculari non sono necessari particolari accorgimenti per il prelievo: in aggiunta viene ricordato che, viste le ridotte dimensioni di tali organi, il campione globale da inviare al laboratorio deve essere costituito dall'intera tiroide e da entrambi i bulbi oculari.

I campioni di pelo sono prelevati dal dorso di animali pigmentati, privilegiando le zone a più intensa pigmentazione, mentre la matrice latte, da campionare esclusivamente in allevamento, deve essere prelevata soltanto a livello della cisterna ed essere costituita da latte crudo.

Per il latte ricostituito, sono fissate indicazioni particolari: oltre al prelievo a livello di miscelatore, secchi o circuiti di somministrazione, è necessario, per dimostrare l'aggiunta di sostanze illecite, eseguire un ulteriore campionamento di latte in polvere direttamente dal sacco chiuso.

Per la matrice "uova" viene indicato che ciascuna aliquota deve essere composta da almeno 6 unità, mentre per il miele viene specificato che il suo prelievo deve essere effettuato in allevamento da favi di melario, direttamente dall'arnia.

Per le modalità di prelievo degli alimenti per animali si fa riferimento a quanto riportato nel Decreto Ministeriale 20 aprile 1978 e nel Regolamento

(CE) n. 152/2009, mentre per l'acqua di abbeverata vengono indicati come siti di prelievo i dispositivi o le vasche di abbeveraggio.

Viste le piccole dimensioni di volatili da cortile, conigli e selvaggina di piccola taglia (esclusivamente da penna), il PNR 2012 ha previsto la possibilità di prelevare le diverse matrici da più soggetti, costituendo un pool di campioni, in modo da raggiungere la quantità necessaria di materiale.

Per i prelievi in acquacoltura, l'unità campionaria deve essere composta da più pesci frammentati, da cui si ricavano, dopo omogeneizzazione, le aliquote necessarie alla composizione del campione totale.

Le quantità minime per aliquota e le dimensioni globali del campione in caso di campionamento ai sensi del D.P.R. n. 327/80 sono indicate nel dettaglio nella seguente tabella, presente nel PNR 2012 (Tabella 3).

Tabella 3: Tavola riassuntiva delle quantità da prelevare per ciascuna matrice (PNR, 2012).

<b>Matrice</b>	<b>Quantità minima per aliquota</b>	<b>Campione Globale (<i>in caso di campione ai sensi del DPR 327/80</i>)</b>
<b>Urina</b>	30/50 ml	150/250 ml
<b>Siero/plasma</b>	10 ml	50 ml
<b>Grasso, muscolo, fegato</b>	100 g	500g
<b>Rene</b>	100 g	L'intero rene (entrambi in ovini e vitelli giovani)
<b>Bulbo oculare</b>	1 bulbo	Entrambi i 2 bulbi
<b>Toroide</b>	Mezza tiroide	L'intero organo
<b>Pelo</b>	2,5 g	13 g
<b>Latte crudo, latte trattato</b>	200 ml	1 lt
<b>Uova</b>	6 uova	30 uova
<b>Miele</b>	100 g	500 g
<b>Latte ricostituito, brode</b>	200 ml	1 lt
<b>Medicinali veterinari</b>		
<b>prefabbricati su supporto liquido</b>	20-25 ml	100-125 ml
<b>Premiscele medicate, Premiscele di additivi</b>	20-25 g	100-125 g
<b>Mangimi, acqua</b>	500 g/ml	2,5 kg (2,5 lt)

Le aliquote da prelevare dipendono dal tipo di campione e dal residuo da ricercare:

- ✓ in caso di campione mirato per la ricerca di sostanze autorizzate o di contaminanti ambientali devono essere prelevate almeno due aliquote parziali equivalenti (Decisione 98/179/CE);
- ✓ in caso di campione mirato per la ricerca di sostanze vietate e/o non autorizzate, cortisonici, sostanze antibatteriche compresi sulfamidici e chinolonici ed in caso di campione su sospetto clinico anamnestico o a seguito di positività, devono essere prelevate 4/5 aliquote (D.P.R. n. 327/80) così suddivise: tre vengono inviate al laboratorio, una viene consegnata al proprietario/detentore degli animali e una al titolare del macello.

### **3.1.3 Esame istologico**

Il test istologico, da eseguire su bovini regolarmente macellati, viene attuato con lo scopo di realizzare in tutto il territorio nazionale, un piano di sorveglianza epidemiologica (monitoraggio) circa l'utilizzo di sostanze non autorizzate o utilizzate impropriamente nell'allevamento bovino.

Tale attività, come già indicato, è stata introdotta nel Piano Nazionale per la ricerca dei Residui a partire dal 2008, con l'inserimento del "Piano di monitoraggio mediante test istologico".

E' noto già da tempo che gli anabolizzanti impiegati illegalmente in zootecnia, oltre agli effetti perseguiti, quali lo sviluppo della fibra muscolare e la diminuzione dei grassi di deposito, producono gravi alterazioni a carico di determinati organi, sia di ordine macroscopico che microscopico (Biolatti et al., 2003).

I beta-agonisti, ad esempio, agendo sulla muscolatura liscia, sono responsabili dell'appiattimento della cresta tracheale, presente tipicamente nella specie bovina; inoltre portano ad una diminuzione del tessuto adiposo sottocutaneo, senza modificazioni di quello intramuscolare (Circolare ministeriale n. 14 del 29 settembre 2000), e ad una riduzione del grasso perirenale (Biolatti, 2003).

Gli effetti dei corticosteroidi si manifestano a livello del timo e delle ghiandole surrenali che, macroscopicamente, risultano di dimensioni ridotte: nel primo si assiste ad atrofia e deplezione linfocitaria, mentre le surrenali presentano ipotrofia della corticale (Biolatti et al., 2003).

I tireostatici provocano iperplasia e struma della tiroide, con un aumento di volume e di peso dell'organo (Biolatti et al., 2003). Nel vitello il peso normale di quest'organo è 11-14 g; valori superiori a 35-55 g possono essere considerati sospetti. Nell'adulto il peso della tiroide può raggiungere, nei casi più eclatanti, valori di 400-500 g (Circolare ministeriale n. 14 del 29 settembre 2000).

Gli ormoni sessuali provocano differenti modificazioni in base al sesso degli animali a cui sono somministrati.

Gli estrogeni, somministrati in soggetti maschili, portano a una riduzione di volume dei testicoli, ad aspetto biancastro della superficie di taglio della prostata e aumento di dimensioni dei capezzoli, con sviluppo della ghiandola mammaria; il quadro istologico evidenzia atrofia testicolare, iperplasia/metaplasia e fibrosi nella prostata e ghiandole bulbo-uretrali e differenziazione della mammella (Biolatti et al., 2003).

Come effetti degli estrogeni sulle femmine, a livello macroscopico, Biolatti et al. (2003) riportano: aumento di volume dell'utero, ovaie cistiche o atrofiche, aumento di volume della ghiandola vestibolare maggiore, della ghiandola mammaria e dei capezzoli in soggetti impuberi. A livello microscopico si evidenziano: metaplasia nella cervice e iperplasia/metaplasia e fibrosi nella ghiandola vestibolare maggiore, ovaie cistiche o atrofiche, mucometra, sviluppo precoce della porzione ghiandolare secernente (differenziazione) della ghiandola mammaria in soggetti che non hanno ancora raggiunto la pubertà (Biolatti et al., 2003).

Gli androgeni, oltre ad indurre atrofia testicolare, portano alla formazione di cisti e fibrosi a livello della prostata e delle ghiandole bulbo-uretrali; nelle femmine, oltre a un aumento del clitoride, si assiste, a livello della ghiandola vestibolare maggiore, a ipersecrezione, formazione di cisti e fibrosi (Biolatti et al., 2003).

Secondo Biolatti et al. (2003) tali lesioni permangono a carico degli organi bersaglio per un periodo sufficientemente lungo da poter essere svelate al



momento della macellazione; ciò invece non accade con l'indagine chimica quantitativa.

In uno studio condotto da Bozzetta et al. nel 2010, circa la valutazione delle performance del metodo istologico per l'individuazione delle lesioni microscopiche indotte dal 17 beta-estradiolo nelle ghiandole sessuali accessorie dei vitelli da carne, viene mostrato che l'analisi istologica è in grado di evidenziare il trattamento anche dopo quindici giorni di sospensione, quando i metodi chimici applicati sul siero non sono più in grado di riscontrare né la molecola, né i suoi metaboliti.

A causa della rapida metabolizzazione ed eliminazione a cui vanno incontro alcune di queste molecole, all'uso di combinazioni di numerose molecole nello stesso preparato e in parte all'adozione di molecole diverse o modificate rispetto a quelle ricercate dalle metodiche ufficiali, le indagini chimiche quantitative non sembrano rispecchiare sufficientemente la realtà (Biolatti et al., 2003).

Nel periodo 2004-2006, il Ministero della Salute condusse uno studio pilota in merito alle alterazioni di tipo isto-anatomo-patologiche in organi bersaglio, riconducibili all'utilizzo illecito di promotori della crescita. Da tale indagine emerse una netta discrepanza sull'ordine di grandezza dei casi dubbi o sospetti all'esame istologico e quelli positivi alle metodiche chimiche ufficiali negli allevamenti bovini (Delibera della Giunta Regionale del Veneto n. 1412 del 06 settembre 2011).

A seguito di ciò, lo studio pilota, condotto con il coinvolgimento di 8 Regioni, fu esteso, con il PNR del 2008, a tutto il territorio italiano.

Il Ministero, nella premessa del piano di monitoraggio mediante il test istologico (PNR, 2008), precisa però che tale attività deve essere considerata un elemento integrativo e non sostituisce, in alcun modo, il controllo chimico-fisico, che rimane l'unico metodo con validità giuridico-legale nell'ambito del Piano Nazionale per la ricerca dei Residui (PNR, 2008).

In merito al campionamento, il PNR 2008, fornisce indicazioni particolareggiate.

Il numero di partite da testare per Regione o Provincia autonoma è riportato nella tabella 4; devono essere preferite le partite di provenienza intraregionale, evitando che la loro scelta sia dettata da valutazioni

anamnestiche come caratteristiche degli animali macellati e pregresse positività dell'azienda di origine; la loro distribuzione deve essere uniforme durante l'anno di attuazione del PNR.

Tabella 4: Numero di partite da campionare per singola Regione a PA (PNR, 2012).

<b>Partite inviate al macello/anno</b>	<b>Partite da controllare</b>
<b>N</b>	<b>n</b>
41-50	38
51-60	40
61-80	48
81-500	53
204-700	60
<b>701 e +</b>	<b>61</b>

In sede di macellazione, i soggetti dovranno essere scelti tenendo conto che l'unità di campionamento è rappresentata dalla singola partita, ossia da un gruppo di animali della stessa categoria e provenienti dallo stesso allevamento; il veterinario incaricato del prelievo, in base alle dimensioni della partita prescelta, individua il numero di capi da esaminare per partita (Tabella 5 e Tabella 6).

Tabella 5: Numero di capi da campionare per partita (PNR, 2012).

<b>Dimensione della partita</b>	<b>Dimensione del campione</b>
<b>N</b>	<b>n</b>
1-3	Tutti i soggetti
4-7	4
8-32	6
33 e +	7

Tabella 6: Tabella di riferimento per la determinazione del numero di soggetti da campionare per partita (Cannon & Roe) (PNR, 2008).

Dimensione della partita	Dimensione del campione
1-3	Tutti i soggetti
4-5	3
6-19	4
20-70	5

Una volta determinato il numero di soggetti da campionare per una determinata partita, si procede, mediante campionamento di tipo sistematico in modo da escludere qualsiasi valutazione soggettiva, al prelievo dei campioni che devono essere fissati immediatamente in formalina al 10% utilizzando, possibilmente, contenitori da 25 cc a chiusura ermetica.

Il campione prelevato viene considerato idoneo quando, per ciascun animale della partita, vengono prelevati tutti gli organi previsti dal piano: per entrambi i sessi devono essere prelevati timo e tiroide, per i maschi inoltre vengono campionati prostata e ghiandole bulbo uretrali e per le femmine ovaio, mammella e ghiandole del Bartolino (PNR, 2010).

Tabella 7: Organi da prelevare in funzione della categoria animale secondo il PNR (Cocumelli et al, 2009).

Organi	Maschi		Femmine	
	<=8 Mesi	9-24 Mesi	<=8 Mesi	9-24 Mesi
Timo	X	X	X	X
Tiroide	X	X	X	X
Prostata	X	X	--	--
Ghiandole bulbo-uretrali	X	X	--	--
Ghiandole del Bartolino	--	--	X	--
Ovaio	--	--	X	--
Mammella	--	--	X	--

Qualora, dalle analisi istologiche compiute, si evidenzino campioni sospetti per cortisonici, tireostatici o steroidi sessuali, l'organo che ha eseguito i prelievi deve attivare i controlli nell'azienda di origine degli animali.

### 3.1.4 Verbale di prelievo

Tutti i campioni prelevati in attuazione del Piano Nazionale Residui, inerenti le attività di “Piano”, “Extrapiano” o “Sospetto”, devono essere accuratamente identificati, sigillati e accompagnati dal verbale di prelievo PNR.

Questo documento ufficiale, che deve accompagnare ogni aliquota costituente il campione, deve essere puntualmente compilato e riportare i seguenti dati:

- ✓ numero di verbale, con le indicazioni inerenti la Regione e la AUSL di appartenenza;
- ✓ tipo di piano e tipologia di campionamento eseguito;
- ✓ data e ora del prelievo;
- ✓ dati del/dei verbalizzanti e loro qualifica;
- ✓ sede di prelievo (allevamento, macello, stabilimento o battuta di caccia) con i dati relativi a sede e codice aziendale o numero di riconoscimento;
- ✓ dati inerenti i capi (specie, categoria/età, razza, sesso, numero marca auricolare o tatuaggio) o prodotti di origine animale campionati;
- ✓ numero di animali campionati, origine, appartenenza ed entità della partita, compreso il paese d’origine degli animali;
- ✓ dati inerenti il proprietario (nome e cognome, luogo e data di nascita, residenza e codice d’allevamento);
- ✓ numero di campioni prelevati, materiale prelevato (organo o tessuto, alimento per animali o altro) ed esami richiesti;
- ✓ numero di aliquote e rispettive lettere identificative per ciascuna di esse;
- ✓ modalità di prelievo e di conservazione (PNR, 2012).

Nel caso di campionamenti effettuati per la ricerca di diossine e PCB diossina simili, deve essere riportato il metodo di produzione (biologico, convenzionale o sconosciuto), le modalità di allevamento in base alla specie allevata, il periodo di pascolo per il latte e il metodo di produzione (biologico, convenzionale o sconosciuto) per alimenti per animali, mangimi medicati e premiscele per alimenti medicamentosi (PNR, 2012).

I campioni destinati alle analisi istologiche devono pervenire ai laboratori diagnostici degli Istituti Zooprofilattici addetti a preparazione ed esame dei

tessuti, accompagnati dalla “Scheda prelievo campioni istologici”. Tale documento, redatto per ogni singolo animale campionato, deve contenere:

- ✓ data di prelievo, numero di accettazione dell’Istituto Zooprofilattico, numero progressivo della partita assegnato dalla Regione, numero dei capi costituenti la partita e quello dei capi campionati al suo interno e una lettera dalla A alla G che identifica il soggetto campionato;
- ✓ dati inerenti il Veterinario prelevatore e la Az. USL di appartenenza;
- ✓ luogo di prelievo con nome e codice (bollo CEE) del macello;
- ✓ dati segnaletici dell’animale campionato (categoria, sesso, razza e numero marca auricolare);
- ✓ indicazione degli organi prelevati e di eventuali trattamenti dichiarati;
- ✓ esito della visita *post-mortem*, in particolare se sono presenti alterazioni ovariche, ipertrofia prostatica, atrofia timica o assenza della cresta tracheale (PNR, 2012).

### **3.2 Il laboratorio: metodi e tempi di analisi**

Al momento dell’arrivo in laboratorio, viene valutata l’idoneità del campione per l’esecuzione delle analisi previste dal PNR. In particolare viene controllato:

- ✓ il verbale di accompagnamento, che deve essere specifico per il PNR e correttamente compilato in ogni sua parte;
- ✓ la data di prelievo: la consegna deve essere effettuata entro 2 giorni lavorativi dal campionamento;
- ✓ il rispetto delle buone pratiche di campionamento inerenti le matrici da campionare, i contenitori e i sigilli da utilizzare e la corretta conservazione del campione, dal prelievo alla sua consegna (PNR 2012).

Gli I.L.ZZ.SS. sono tenuti ad effettuare le analisi utilizzando esclusivamente metodi di *screening* e di conferma validati e accreditati.

Per metodo di *screening* si intende il metodo utilizzato per rilevare la presenza di una sostanza o di una classe di sostanze al livello di interesse, cioè la concentrazione della sostanza o dell’analita in un campione che è significativa per determinare la sua conformità alla legislazione. Tali metodi consentono di analizzare un elevato numero di campioni in tempi brevi e

vengono impiegati per vagliare campioni molto numerosi, alla ricerca di potenziali risultati non conformi (Decisione 2002/657/CE).

Delli Quadri et al. (2005), in un lavoro pubblicato nel 2005 in merito ai metodi di *screening* nell'attività di controllo ufficiale, affermano che, tra questi, i saggi immunologici hanno trovato una diffusa applicazione per la loro sensibilità e specificità.

Le metodiche indicate per lo *screening* sono progettate specificamente per evitare falsi risultati conformi: la Decisione 2002/657/CE, in ottemperanza alla Direttiva 96/23/CE, specifica che possono essere utilizzate per finalità di *screening* solo quelle tecniche analitiche che hanno un tasso di falsi conformi inferiore al 5 % del livello d'interesse. Nel caso di un sospetto risultato non conforme, tale risultato è confermato per mezzo di un metodo di conferma (Decisione 2002/657/CE).

Il laboratorio che esegue le analisi di *screening* per sostanze vietate, in caso di esito non conforme, è tenuto ad avvertire l'organo prelevatore, gli uffici di coordinamento regionale o provinciale e l'Azienda USL; il referto deve pervenire in originale ma, per accelerare le operazioni di trasmissione, in prima istanza, può essere utilizzato il telefax.

Le analisi di conferma, invece, sono metodi che forniscono informazioni complete o complementari con il fine di identificare la sostanza in modo univoco e, nel caso sia necessario, quantificarla al livello di interesse (Decisione 2002/657/CE).

Secondo le indicazioni del PNR 2012, gli Istituti Zooprofilattici Sperimentali devono eseguire le analisi richieste in via prioritaria; i tempi di risposta massimi raccomandati variano in base alle sostanze ricercate:

- ✓ per le sostanze di Categoria A, orientativamente, 10 giorni lavorativi dalla consegna del campione al laboratorio;
- ✓ per le sostanze di Categoria B non si devono superare 30 giorni lavorativi.

Eccezioni a tale tempistica sono ammesse nel caso di trasferimento dei campioni in altro laboratorio, per la Categoria B, e per l'esecuzione di analisi più approfondite, per le sostanze di Categoria A.

In caso di non conformità, il proprietario ha la facoltà di chiedere l'esecuzione di analisi di revisione, in seconda istanza, presso l'Istituto

Superiore di Sanità: l'aliquota destinata a tale scopo, deve essere inviata al laboratorio completa di verbale di prelievo, certificato d'analisi e ricevuta attestante il pagamento del compenso per le analisi, effettuato dal richiedente.

Per quanto riguarda il test istologico effettuato con finalità di *screening*, ai laboratori diagnostici degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali, incaricati di eseguire tali analisi, devono pervenire i tessuti da analizzare, debitamente scortati dall'apposita scheda di campionamento, relativa al PNR in corso, compilata in tutte le sue parti. La preparazione del campione per le analisi prevede, oltre alla fissazione in formaldeide tamponata al 4%, da effettuarsi al momento del prelievo, l'inclusione in paraffina, il sezionamento al microtomo per ottenere una sezione dello spessore di 2/4 micron e la colorazione con ematossilina-eosina. Il personale del laboratorio, debitamente formato e con esperienza nel settore, procede alla lettura dei vetrini ottenuti: l'emissione del rapporto di prova deve avvenire entro 15 giorni dall'accettazione del campione.

Per la registrazione delle alterazioni e per esprimere un giudizio sintetico, è previsto l'utilizzo dell'apposita "Scheda diagnostica" e della "Scheda di valutazione" presenti nel PNR.

La scheda diagnostica viene utilizzata nel corso della lettura del preparato con l'intento di specificare, per ciascun organo indicato dal piano:

- ✓ la non eseguibilità dell'analisi per campione non pervenuto, partita non conforme o età dell'animale non idonea per le analisi;
- ✓ la non idoneità del campione per porzione anatomica errata, autolisi, congelamento o, in caso di tessuto ghiandolare, presenza di flogosi di tipo follicolare imponente;
- ✓ l'età del bovino campionato (bovino fino a 8 mesi o da 9 a 24 mesi);
- ✓ per il timo e la tiroide, il grado di atrofia indotta da cortisonici e di iperplasia diffusa da tireostatici, con l'esito conclusivo;
- ✓ per la prostata e le ghiandole bulbo uretrali, entrambi indagati per alterazioni dovute ad ormoni steroidei, l'iperplasia e la metaplasia del tessuto ghiandolare e dei dotti per le sole ghiandole bulbo uretrali e l'esito conclusivo.

La scheda di valutazione individua, per ciascun organo, la lesione da ricercare, il suo grado e l'esito finale (negativo, dubbio o sospetto), in base all'età dell'animale da cui è stato effettuato il prelievo (vitello fino a 8 mesi o vitellone da 8 a 24 mesi) (Tabella 8).

Tabella 8: “Scheda di valutazione” PNR 2012

Timo			Tiroide	
Lesione	Esito	Esito	Lesione	Esito
Atrofia	VCB	VTN	Iperplasia diffusa	
Assente/Lieve	Negativo	Negativo	Assente	Negativo
Moderata	Sospetto	Dubbio	Presente	Sospetto
Grava	Sospetto	Sospetto		

Prostata – Tessuto Ghiandolare		Bulbo uretrali – Dotti	
Lesione	Esito	Lesione	Esito
Normale/iperplasia	Negativo	Normale/iperplasia	Negativo
Metaplasia	Sospetto	Metaplasia	Sospetto

Bulbo uretrali – Tessuto Ghiandolare	
Lesione	Esito
Normale/iperplasia	Negativo
Metaplasia	Sospetto

Fino al 2011, entrambe le schede riportavano le indicazioni riguardanti ovaie, mammella e ghiandole vestibolari maggiori; nel 2012 è stato deciso di escludere dal campionamento i soggetti femminili, per mancanza di dati oggettivi necessari per la valutazione microscopica.

Il laboratorio ha il compito di notificare gli esiti analitici alle Az.USL e alle Regioni che hanno eseguito il prelievo riportando: la dicitura “Sospetto” o “Non sospetto” per cortisonici, tireostatici e steroidi sessuali; tale giudizio può essere riportato per ciascun organo indagato (PNR, 2012).



### 3.3 Esiti delle analisi e attività connesse

Gli Istituti Zooprofilattici Sperimentali, che eseguono le analisi sui campioni prelevati in attuazione del PNR, hanno il compito di informare tempestivamente i Servizi Veterinari affinché, in caso di non conformità, possa essere attuato un efficace e celere intervento.

In merito alle attività di “Piano”, “Extrapiano” e “Sospetto”, il campione è ritenuto conforme se, nel rapporto d’analisi, la sostanza ricercata non risulta superiore al limite di azione; il PNR 2012 definisce tale limite come “il livello per la dichiarazione di non conformità”.

Nelle tabelle di programmazione presenti nei piani nazionali annuali, vengono indicati per ciascuna molecola da ricercare, i limiti di azione corrispondenti, specificando matrice e categoria animale.

Per la maggior parte delle sostanze ad effetto anabolizzante e non autorizzate (Categoria A, Allegato I del D. Lgs. n. 158/2006), per le quali non esistono specifici limiti di legge, la rilevazione stessa della sostanza ricercata comporta la non conformità.

Per alcune molecole appartenenti a questa categoria sono stati stabiliti, a livello comunitario, i Limiti Minimi di Rendimento Richiesti (LMRR); la Decisione 2002/657/CE definisce tale valore come il contenuto minimo di analita in un campione che deve essere rilevato e confermato, volto ad armonizzare il rendimento analitico dei metodi per le sostanze per le quali non è stato stabilito un limite consentito.

E’ questo il caso di cloramfenicolo, metaboliti dei nitrofurani e acetato di medrossiprogesterone per alcune matrici, tra cui carni, prodotti dell’acquacoltura, latte e miele (Decisione 2003/181/CE), e del verde di malachite (Decisione 2004/25/CE), per il quale il limite di azione viene fatto coincidere con il LMRR. Per quanto riguarda la ricerca di cloramfenicolo e metaboliti dei nitrofurani, in matrici diverse da quelle contemplate dalla Decisione 2003/181/CE, come l’acqua di abbeverata, il riscontro della sola presenza viene giudicato non conforme.

Tra le sostanze presenti in questa categoria fanno eccezione, in aggiunta ai precedenti, alcuni steroidi (gruppo A3, Allegato I D. Lgs. n. 158/2006), in particolare 17-beta-estradiolo, progesterone e testosterone, ricercati nella matrice siero o plasma. Nel Decreto Ministeriale del 14 novembre 1996 vengono indicati, per la specie bovina, i livelli fisiologici massimi di questi ormoni nel siero e nel plasma, in base a sesso ed età. Oltrepassati tali livelli fisiologici massimi, il campione viene ritenuto non conforme.

Per i gestageni, appartenenti sempre al gruppo degli steroidi (A3) e per il clembuterolo, beta-agonista di gruppo A5, nelle matrici fegato, rene e muscolo di bovino o equino e latte, i limiti di azione sono fissati nel Regolamento (UE) n. 37/2010.

Ad oggi, i limiti dei residui di medicinali veterinari (B1 e B2) in alimenti di origine animale sono dettagliatamente indicati nel Regolamento (UE) n. 37/2010.

Nell'Allegato I di tale regolamento, entrato in vigore agli inizi del 2010, è presente nella tabella 1 l'elenco delle sostanze farmacologicamente attive contemplate negli Allegati I, II e III del Regolamento (CEE) n. 2377/90. Per ogni sostanza è indicato il residuo marcatore se presente, i tessuti campione con i rispettivi LMR per ciascuna specie animale di interesse, la classe terapeutica di appartenenza ed eventuali condizioni e restrizioni in merito a utilizzo o applicazione. In questo caso il limite di azione coincide con il LMR.

Per alcune molecole appartenenti al gruppo B2b, cioè coccidiostatici compresi i nitromidazoli, i LMR sono indicati dal Regolamento (CE) n. 124/2009 del 10 febbraio 2009, che fissa i tenori massimi di coccidiostatici o istomonostatici presenti negli alimenti, in conseguenza del *carry-over* inevitabile di tali sostanze in mangimi destinati a specie non bersaglio; per la nicarbazina in alcune matrici di polli da ingrasso si applicano i LMR presenti nel Regolamento (UE) n. 875/2010.

Per i carbamati e piretroidi tali limiti vengono fissati dal Regolamento (CE) n. 396/2005 del Parlamento europeo e del Consiglio del 23 febbraio 2005, concernente i livelli massimi di residui di antiparassitari nei o sui prodotti alimentari e mangimi di origine vegetale e animale. In tale regolamento

sono presenti, inoltre, i limiti massimi di alcuni pesticidi organoclorurati e organofosforati, inseriti nel PNR del gruppo B3a e B3b.

In alcuni casi, anche solo la presenza di un medicinale veterinario può comportare il rilevamento di non conformità. Nella specie bovina, ad esempio, è il caso dei cortisonici nelle urine di vitelli, vitelloni e vacche, di antiinfiammatori non steroidei nel plasma di vitelli e di promazine nelle urine di vitelloni; per la matrice uovo possiamo menzionare i chinolonici e sulfamidici.

Per quanto concerne il miele, i limiti di azione per alcune sostanze antibatteriche (B1), tra cui tetracicline, sulfamidici, streptomicina e tilosina (PNR 2012), coincidono con i limiti di rilevabilità degli esami di conferma. Tali valori sono riportati nel Piano Nazionale per la ricerca dei Residui, conformemente al parere del Consiglio Superiore di Sanità sulla ricerca di sostanze per le quali non sono stati previsti limiti d'azione comunitari (PNR 2012).

Nell'ambito del gruppo B3 (altre sostanze e agenti contaminanti per l'ambiente), il limite di azione può essere per alcune sostanze il LMR, indicato nel Regolamento (UE) n. 37/2011, mentre per altre è rappresentato dal limite massimo accettabile (LM). Ad oggi, i LM attualmente in vigore per queste molecole sono contenuti nel Regolamento (CE) n. 1881/2006 del 19 dicembre 2006 e successive modifiche che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari, tra cui piombo, cadmio, mercurio, diossine e PCB.

Per le sostanze da ricercare nei mangimi, appartenenti a questa categoria, si fa riferimento ai limiti riportati nel D. Lgs. n. 149 del 10 maggio 2004, successivamente modificato dal Decreto Ministeriale 10 gennaio 2007, relativo alle sostanze ed ai prodotti indesiderabili nell'alimentazione degli animali tra cui arsenico, piombo, mercurio e aflatossine e al Regolamento (UE) n. 574/2011 del 16 giugno 2011.

Per le ricerche previste dalla Direttiva 96/23/CE (es. elementi chimici in latte, miele, selvaggina allevata e conigli, PCB in acquacoltura, ecc.), per le quali non esistono specifici limiti di legge, le attività svolte nell'ambito

dell'esecuzione del PNR hanno esclusivamente la finalità di monitoraggio di contaminanti ambientali.

Nel caso in cui l'esame effettuato con metodi di *screening* rilevi valori superiori al limite di azione, è necessario procedere all'esecuzione di ulteriori accertamenti con metodi di conferma validati ed accreditati. Qualora il laboratorio che ha effettuato le analisi di *screening* non sia in grado di procedere all'esecuzione dei test di conferma, è suo compito trasferire il campione presso un altro laboratorio per eseguire le analisi con metodi validati e accreditati.

In caso di positività per la presenza di residui in matrici prelevate con campionamento "mirato" e "clinico-anamnesico", si procede all'esecuzione del campionamento "A seguito di positività": fino all'ottenimento dei referti analitici viene applicato dall'autorità competente il sequestro cautelativo dell'animale, della partita o dell'alimento di origine animale indagato e vengono messe in atto le procedure previste dal D. Lgs. n. 158/2006.

L'Autorità competente, secondo quanto disposto dall'articolo 18 del D. Lgs. n. 158/2006 deve, in caso di presunto trattamento illecito, richiedere al proprietario, detentore o veterinario degli animali chiarimenti in merito alla non conformità riscontrata.

Per trattamento illecito si intende "l'utilizzazione di sostanze o di prodotti non autorizzati, ovvero di sostanze o di prodotti autorizzati, a fini o condizioni diversi da quelli previsti dalle disposizioni vigenti" (art.1, D. Lgs. n. 158/2006). Quindi è sanzionabile sia l'utilizzo di sostanze ad effetto anabolizzante e non autorizzate, sia l'impiego di sostanze permesse, come antibiotici, chemioterapici e antinfiammatori, somministrate senza il rispetto delle disposizioni legislative in merito ai farmaci veterinari.

Tra i principali vincoli legislativi, in merito alla somministrazione di sostanze farmacologicamente attive agli animali i cui prodotti sono destinati all'alimentazione umana, possiamo ricordare l'obbligo di prescrizione medico veterinaria; possono essere venduti farmaci veterinari, tra cui chemioterapici, antibiotici, antiparassitari, corticosteroidi, ormoni, antinfiammatori, sostanze psicotrope, neurotrope, tranquillanti e beta-agonisti, soltanto dietro prescrizione di ricetta medico-veterinaria non ripetibile, in triplice copia (art. 76, D. Lgs. n. 193/2006). Inoltre il

trattamento deve essere registrato in apposito registro tenuto in azienda: i proprietari e i responsabili di animali destinati alla produzione di alimenti devono tenere un registro, vidimato dalla AUSL competente per territorio, in cui riportare, i dati inerenti acquisto, detenzione e somministrazione di medicinali veterinari. Il veterinario che cura gli animali ha l'obbligo di annotarvi data, natura dei trattamenti terapeutici prescritti o eseguiti, dati identificativi degli animali trattati e tempi di attesa o sospensione.

Come indicato dalla Direttiva 2001/82/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio del 6 novembre 2001, per tempo di attesa si intende l'intervallo che deve intercorrere tra l'ultima somministrazione del medicinale veterinario all'animale nelle normali condizioni d'uso e l'ottenimento dei prodotti alimentari dall'animale in questione, per garantire che detti prodotti non contengano residui in quantità superiori ai limiti massimi fissati a norma del Regolamento (CEE) n. 2377/90. L'allevatore, oltre a detenere e conservare tale registro, deve annotare la data e i trattamenti eseguiti entro 24 ore dall'inizio e dalla fine della cura. Il titolare dell'allevamento, in caso di invio di animali al macello, ha l'obbligo di dichiarare i trattamenti effettuati nei 90 giorni precedenti l'invio, come indicato dal D. Lgs. n. 158/2006 e successive modifiche.

In assenza di uno o più dei requisiti previsti per il corretto impiego dei farmaci, come ad esempio assenza di regolare prescrizione, mancata o incompleta registrazione sul registro dei trattamenti, mancato rispetto dei tempi di attesa, mancata dichiarazione del trattamento, devono essere applicate le misure sanzionatorie previste per i trattamenti illeciti (Piano regionale di controllo dei residui indesiderati nelle carni e negli animali allevati, 2006).

Qualora l'Autorità competente, a seguito di un'indagine, sospetti o abbia conferma di un trattamento illecito, è tenuta, ai sensi dell'articolo 18 del D. Lgs. n. 158/2006, ad effettuare controlli accurati sugli animali presenti nell'azienda di origine o provenienza con la possibilità di effettuare controlli analitici su animali detenuti, alimenti a loro destinati e acqua di abbeveraggio e indagare su allevamenti funzionalmente o amministrativamente collegati.

Qualora si constati un trattamento illecito (art. 22), si dispone inoltre il sequestro degli allevamenti sottoposti alle indagini e si procede al prelievo di campioni ufficiali su una percentuale significativa di animali.

Qualora sia confermato il trattamento illecito, l'autorità competente dispone l'immediato abbattimento degli animali riconosciuti non conformi e ne ordina l'invio a uno stabilimento autorizzato ai sensi del Regolamento (CE) n. 1774/2002.

Se è confermato il trattamento illecito con positività di almeno la metà dei campioni, devono essere abbattuti tutti gli animali sospetti presenti in azienda (art. 25, comma 3).

Per un periodo successivo di almeno dodici mesi, l'azienda o le aziende appartenenti al medesimo proprietario, saranno sottoposte a un controllo più rigoroso per la ricerca dei residui (art. 25, comma 4). Controlli ufficiali supplementari per rivelare l'origine della sostanza oggetto di non conformità, devono inoltre essere disposti nelle aziende o negli stabilimenti che riforniscono o sono collegati all'azienda interessata (produttori di farmaci, di mangimi, ecc.).

In caso di superamento dei limiti massimi di residui (art. 23), deve essere effettuata un'indagine nell'azienda di origine o provenienza per stabilire le cause di tale superamento e, in conseguenza dei risultati ottenuti, devono essere prese tutte le misure a tutela della salute pubblica.

In caso di infrazioni ripetute al rispetto dei limiti massimi di residui, il Servizio Veterinario assicurerà un controllo più rigoroso degli animali e dei prodotti dell'azienda e/o dello stabilimento in questione e di quelli funzionalmente collegati, per un periodo di almeno sei mesi, con sequestro dei prodotti o delle carcasse, in attesa dei risultati delle analisi.

Un caso a parte è rappresentato da segnalazioni di esiti diagnostici "Sospetti" conseguenti al test istologico. Nel PNR viene indicato il numero massimo di capi con lesioni evidenti, che, se superato, porta a considerare la l'intera partita di animali sospetta. Risulta necessario precisare che il riscontro anche di un solo capo sospetto, comporta l'attivazione dei controlli previsti dall'articolo 18 del D. Lgs. n. 158/2006 presso l'azienda di allevamento. Qualora si presenti la necessità, le indagini possono includere il prelievo di campioni ufficiali da sottoporre a controlli chimico-fisici:

questi sono da considerarsi, in caso di matrici biologiche, su “Sospetto” “Isto-anatomo-patologico” e comportano il sequestro preventivo dei capi indagati (PNR, 2012).

Come già ricordato, i metodi chimico-fisici possono non confermare quello che viene evidenziato con l’esame istologico; l’autorità incaricata dell’indagine, considerando il tempo trascorso tra prelievo e comunicazione del referto di analisi e le caratteristiche dell’allevamento, può, con l’intento di rendere più efficace il controllo, posticipare il prelievo e programmare, in collaborazione con altri organi di controllo, accertamenti inerenti, ad esempio, la farmacovigilanza (PNR, 2012).

Nel PNR di ciascun anno, è presente il “Questionario sulle attività conseguenti a non conformità”: tale scheda, suddivisa in due parti, permette alla Regione di inviare al Ministero tutte le informazioni utili circa le non conformità rilevate e confermate nel proprio territorio di competenza.

Nella prima parte vengono richieste le informazioni relative al riscontro della non conformità, in particolare in merito a sostanza riscontrata, matrice analizzata, luogo del prelievo, animale campionato e laboratorio d’analisi.

Nella seconda parte, inerente le attività conseguenti a non conformità, sono richieste precisazioni in merito ad allevamento di provenienza/origine di animali o prodotti non conformi, in particolare denominazione e sede dell’azienda, specie presenti, tipo di allevamento ed eventuali verifiche analitiche o documentali effettuate. Inoltre viene richiesto di indicare se la causa di non conformità è stata accertata, le sanzioni applicate, i sequestri effettuati e se sono stati intensificati i controlli da parte del servizio competente presso l’azienda in esame.

## **4 Attività pratica al macello di San Miniato nel biennio 2010-2011**

### **4.1 Materiali e metodi**

Di seguito vengono riportati i dati di attività relativi all'esecuzione dei controlli inerenti il Piano Nazionale per la ricerca dei Residui nel biennio 2010-2011 presso il macello di San Miniato.

Sono state programmate attività in merito al “Piano” propriamente detto, nella specie bovina e suina; non sono stati eseguiti campionamenti in ambito del piano di tipo “Extrapiano” poiché, nella Regione Toscana, tale attività ha riguardato, nel biennio in esame, solamente le matrici miele e latte.

Inoltre sono state programmate ed eseguite le attività inerenti il monitoraggio mediante test istologico.

Nell'ordine verranno presentate: la capacità produttiva dello stabilimento, rilevante ai fini di questa indagine; le attività svolte dal Servizio Veterinario con i dettagli inerenti i giorni di campionamento, la scelta dei soggetti da campionare, le matrici prelevate, i verbali di prelievo e le sostanze ricercate. Dove possibile, i dati estratti verranno confrontati con quelli presenti nella relazione del Piano Nazionale per la ricerca dei Residui del 2010.

Inoltre verrà descritto un caso di non conformità che il Servizio Veterinario competente si è trovato a dover gestire in seguito ad un campionamento “clinico-anamnestico” denominato “Sospetto”.

#### **4.1.1 Capacità produttiva dello stabilimento**

Lo stabilimento di macellazione preso in esame è nato all'inizio degli anni '70 ed è attualmente gestito dal “Consorzio dei Macelli di San Miniato s.r.l.”.

La struttura, ubicata nella provincia di Pisa, è compresa nel territorio di competenza dell'Azienda USL 11 di Empoli ed è attualmente autorizzata alla macellazione di animali appartenenti alle specie bovina, suina, ovicaprina e equina.

Il macello di San Miniato è una delle poche strutture presenti nella Regione Toscana autorizzate alla macellazione delle specie sopra menzionate; dai dati contenuti nell'Anagrafe Nazionale Zootecnica, aggiornati al 30 luglio



2012, risultano riconosciuti solamente 6 stabilimenti con tale attività produttiva. Nelle province di Firenze e Pisa, oltre alla struttura in esame, sono presenti solamente 3 stabilimenti autorizzati alla macellazione di suini e un unico macello di bovini e bufalini. Pertanto, lo stabilimento di San Miniato, risulta un punto di riferimento per le numerose aziende del territorio che allevano queste specie animali.

Negli anni 2010-2011, i bovini di provenienza regionale macellati nello stabilimento in esame, sono stati rispettivamente 3019 e 2990; tali dati corrispondono, per entrambi gli anni, a circa il 54% delle macellazioni complessive di questa specie. Pertanto, possiamo affermare che più della metà dei bovini macellati presso lo stabilimento ha provenienza regionale.

La tabella 9 riporta i dati relativi alle macellazioni di bovini, suini, ovicapri e equini degli anni 2010 e 2011.

Tabella 9: Macellazioni biennio 2010-2011 per la specie bovina, suina, ovicaprina ed equina presso il macello di San Miniato

Anno	Bovini	Suini	Ovicapri	Equini	Totale animali macellati
2010	5541	4540	320	23	10424
2011	5486	4496	359	15	10356
<b>Totale</b>	11027	9036	679	38	20780
<b>Media</b>	5513,5	4518	339,5	19	10390
<b>% sul totale</b>	53,07%	43,48%	3,27%	0,18%	100,00%

La maggior parte degli animali macellati appartiene alla specie bovina con una media di 5513,5 capi all'anno, segue la specie suina con 4518 capi.

La macellazione di ovicapri ed equini risulta un'attività marginale: in media sono stati macellati 339,5 ovicapri e 19 equini nei due anni presi in analisi.

La macellazione di bovini risulta pertanto l'attività principale: sul totale dei capi macellati nel biennio 2010-2011, circa il 53% sono bovini, il 43,5% suini, il 3,3% ovicapri e lo 0,2% equidi.

Inoltre, analizzando i dati relativi alle macellazioni dei due anni in esame, si nota un lieve decremento del numero di macellazioni totali: nel 2011 sono

stati abbattuti 68 animali in meno rispetto al 2010. Scendendo in dettaglio, sono stati macellati in meno, rispetto all'anno precedente, 55 bovini (1%), 44 suini (1%) e 8 equini (35%); sono invece pervenuti nel sito di macellazione 39 ovicapri in più rispetto al 2010, pari ad un aumento del 12,2%.

## 4.1.2 Campionamento

### 4.1.2.1 Giorni di campionamento

Di seguito, sono riportate le date di esecuzione dei campionamenti in merito alle attività di “Piano” propriamente detto (nella specie bovina e suina) e di “Piano di monitoraggio mediante test istologico”.

Tali date vengono riportate separatamente per ciascuno dei due anni presi in esame (Grafici 2 e 3).

Grafico 1: Distribuzione annuale giorni di campionamento – anno 2010

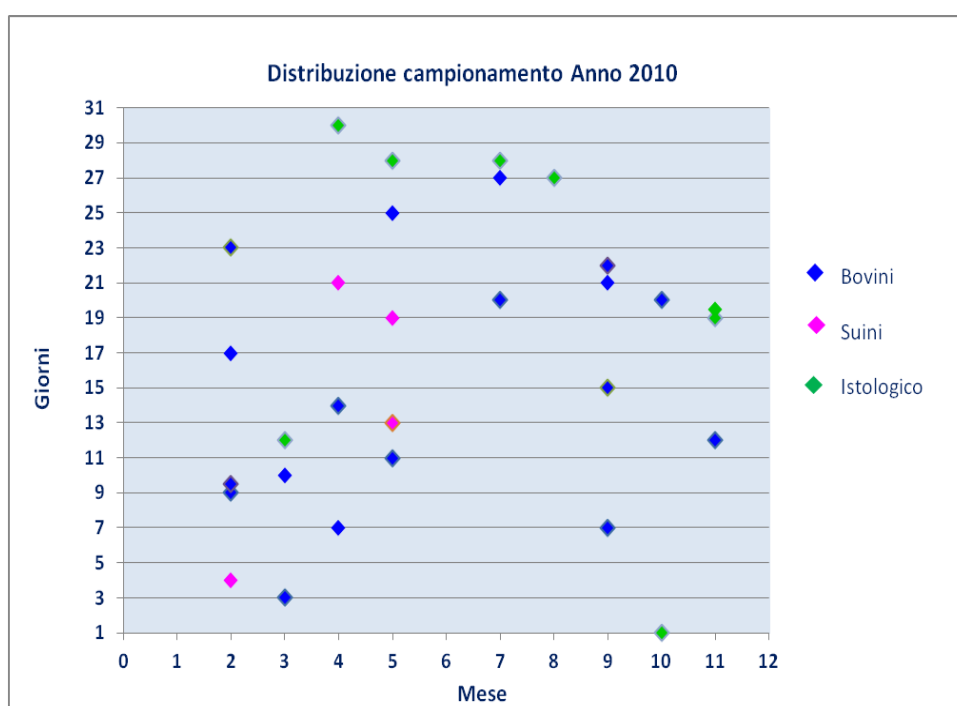
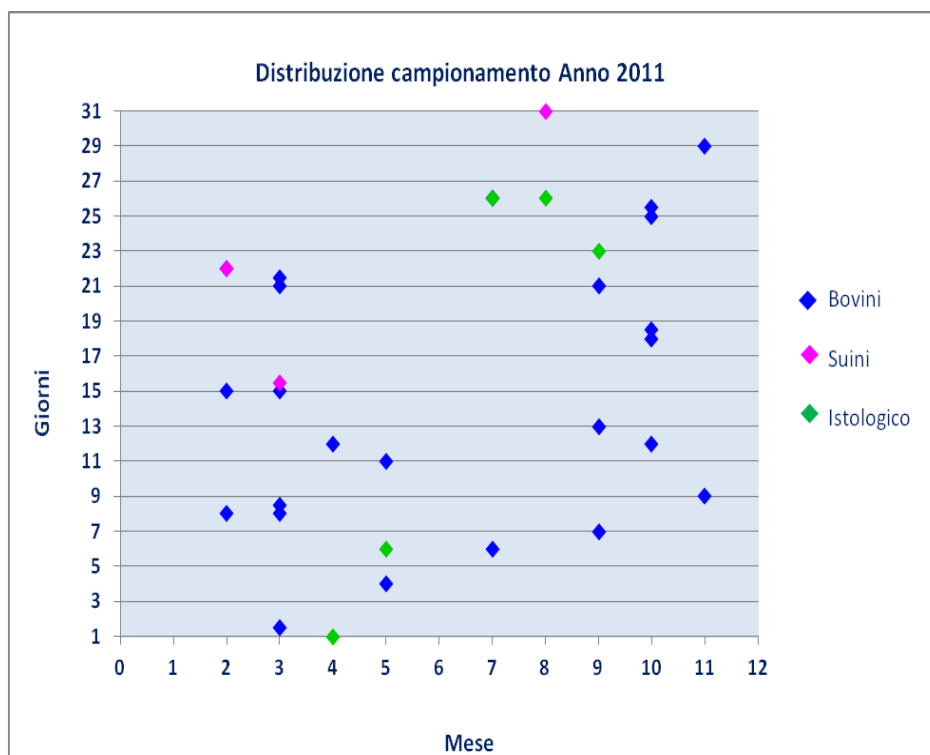


Grafico 2: Distribuzione annuale giorni di campionamento – anno 2011



Come si può notare dai grafici 2 e 3, al fine di eseguire le attività richieste dal PNR, non sono state scelte date fisse del mese.

Per quanto riguarda i giorni della settimana in cui sono stati eseguiti i campionamenti previsti dal “Piano”, si nota che, nel 2010, il 30% dei campionamenti sono stati eseguiti di martedì, il 36% di mercoledì, il 7% di giovedì e il 27% di venerdì. Non sono avvenuti campionamenti nella giornata di lunedì (Grafico 3).

Grafico 3: % di campionamenti eseguiti per giorno della settimana - anno 2010



Nel 2011 invece, il 6% dei campionamenti sono stati eseguiti di lunedì, il 55% martedì, il 27% mercoledì e il 12% venerdì. Non sono stati eseguiti campionamenti il giovedì (Grafico 4).

In entrambi gli anni, nessun prelievo è stato effettuato nel fine settimana, poiché tale stabilimento non risulta attivo.

Grafico 4: % di campionamenti eseguiti per giorno della settimana- anno 2011



I grafici 6 e 7 mostrano la distribuzione mensile delle attività di campionamento.

Grafico 5: Distribuzione mensile delle attività macello San Miniato - anno 2010

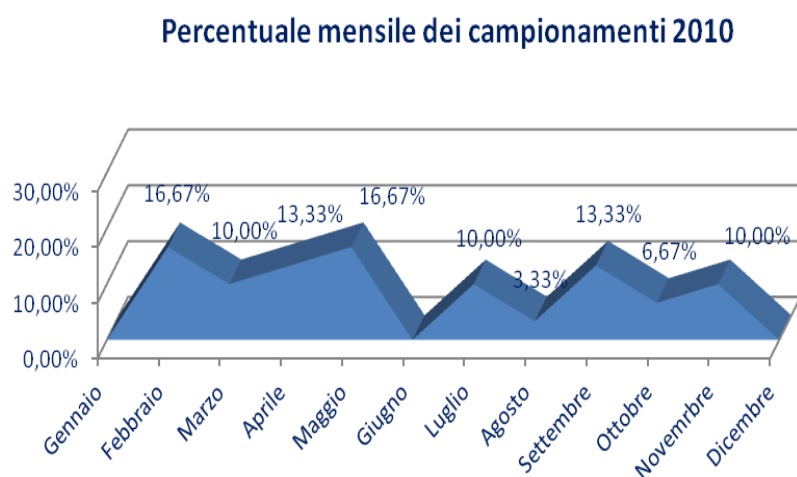
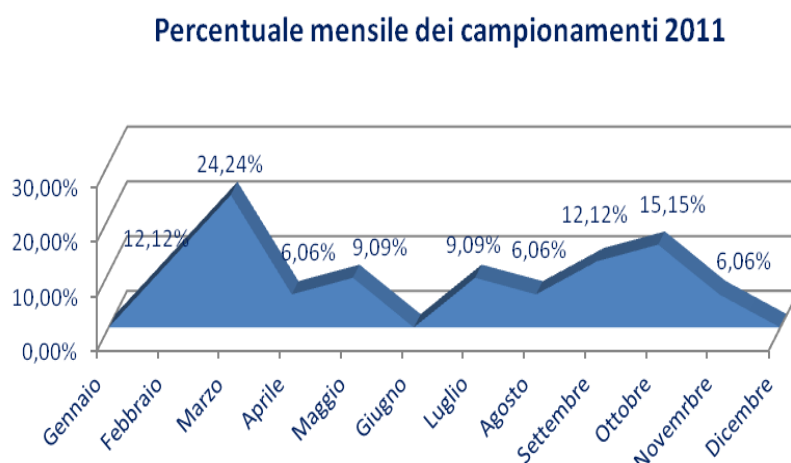
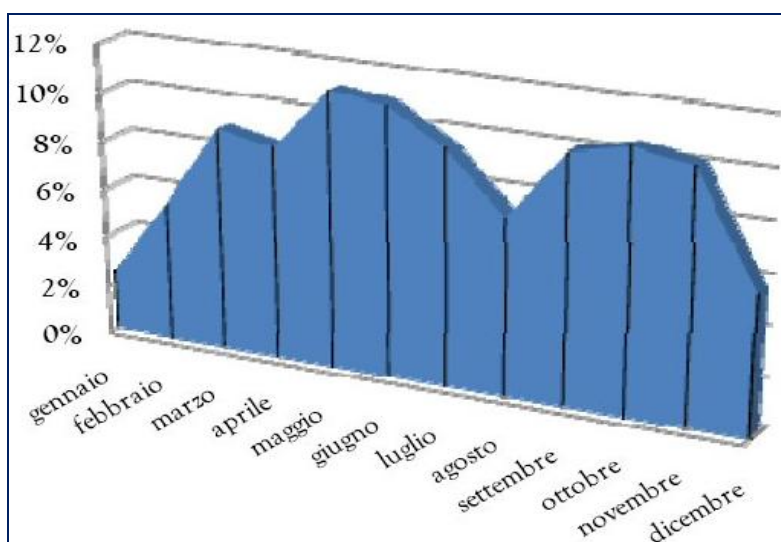


Grafico 6: Distribuzione mensile delle attività macello San Miniato - anno 2011



Si nota che, per entrambi gli anni, i mesi di gennaio, giugno e dicembre non hanno visto l'esecuzione di campionamenti inerenti sia l'attività di "Piano", sia ai fini del test di *screening* istologico.

Grafico 7: Distribuzione mensile dell'attività di campionamento PNR 2010



In linea con le raccomandazioni presenti nel PNR dei due anni in esame, il campionamento effettuato è stato imprevisto, inatteso ed effettuato in date non fisse del mese.

In merito ai giorni di campionamento, si nota che, pur non essendo stati scelti giorni particolari, il martedì e il mercoledì di entrambi gli anni, hanno visto l'esecuzione di più della metà dei campionamenti effettuati.

Confrontando i dati con quelli disponibili a livello nazionale, ed in particolare con i risultati inerenti la distribuzione mensile dell'attività PNR 2010 (Grafico 7) riportati nella relazione finale di questo anno, l'assenza di campionamenti che si è verificata nel mese di gennaio nel macello in esame, risulta in linea con la limitata attività dei primi mesi dell'anno a livello nazionale.

Nel periodo estivo, invece, la forte diminuzione dei campionamenti nel mese di agosto, non trova riscontro nelle attività svolte presso lo stabilimento; probabilmente a causa della riduzione del numero di macellazioni e delle ferie annuali, nel caso in esame, è il mese di giugno quello con la percentuale minore di campionamenti eseguiti (0%) tra i mesi estivi.

In dicembre, anche a livello nazionale si evidenzia una riduzione delle attività rispetto ai mesi precedenti: nello stabilimento considerato, nell'ultimo mese dell'anno non sono stati eseguiti campionamenti poiché tutte le attività programmate sono state completate entro il mese di novembre.

#### **4.1.2.2 Scelta dell'animale da campionare**

In caso di campionamento "mirato", la scelta del soggetto da campionare è stata effettuata dal Veterinario Ufficiale durante la visita *ante-mortem*, individuando quello rispondente alle caratteristiche dettate dalla programmazione (specie e categoria) con il più alto rischio di trattamento. In questa circostanza, la scelta non si è basata sul sospetto inerente un trattamento illecito ma su alcune caratteristiche dell'animale (come età, sesso, specie, tipo di allevamento) o del produttore, tra cui dati e pregressi risultati negativi a suo carico, che hanno indotto a ritenere l'animale potenzialmente a rischio.

Una volta scelto il soggetto da campionare, il Veterinario Ufficiale ha provveduto a seguire prima il capo, poi la carcassa e i suoi visceri lungo

tutta la catena di macellazione. Durante l'esecuzione della visita *post-mortem*, sono state accuratamente ricercate modificazioni anatomopatologiche riconducibili a trattamenti farmacologici a carico di organi bersaglio, come timo e trachea.

In merito alle attività inerenti il piano di monitoraggio mediante test istologico, nel biennio considerato sono stati campionati vitelli e vitelloni di sesso maschile. Viste le indicazioni riportate nel PNR del 2010 e 2011, sono stati sottoposti a campionamento capi di provenienza regionale e la scelta della partita da campionare non è stata dettata da valutazioni anamnestiche o da pregresse positività dell'allevamento di origine.

Il numero dei soggetti da campionare per partita, è stato estrapolato dalla tabella di riferimento per la determinazione del numero di soggetti da campionare per partita, presente nel PNR relativo all'anno di esecuzione. Sono state scelte partite di animali cosituite da un unico capo di provenienza regionale, e, per tale motivo, è stato campionato un solo soggetto.

#### 4.1.2.3 Matrici e prelievo dei campioni

Le matrici campionate in merito al "Piano" sono riassunte, suddivise per anno e specie, nella tabella 10.

Tabella 10: Matrici e numero campioni prelevati nella specie bovina e suina per anno in merito al "Piano"

Anno 2010				Anno 2011			
Matrice		N. Campioni prelevati		Matrice		N. Campioni prelevati	
Bovino	muscolo	7		muscolo	11		
	urina	2		urina	2		
	Tessuto adiposo	1		Tessuto adiposo	1		
	Fegato	8		Fegato	9		
Suino	muscolo	3		muscolo	3		
	fegato	1		fegato	0		

Per la specie bovina si è proceduto al campionamento, per entrambi gli anni, di fegato, muscolo, tessuto adiposo e urina.

Per la specie suina, ed in particolare per i soggetti da ingrasso, nel 2010 sono stati campionati fegato e tessuto muscolare, mentre nel 2011 solamente quest'ultimo.

Le matrici maggiormente campionate, nella specie bovina, sono state, in entrambi gli anni, fegato e muscolo. Per il suino, si può notare una prevelenza della matrice muscolo rispetto al fegato, che nel 2011 non è stato campionato in questa specie.

I campionamenti sono stati eseguiti dal Veterinario Ufficiale incaricato dall'Az. USL 11 di Empoli, coadiuvato da personale tecnico specializzato.

Di seguito, per ciascuna matrice da prelevare, viene descritta la modalità operativa, i mezzi utilizzati e le aliquote prelevate affinché il campione potesse essere considerato ufficiale.

Il campionamento della matrice "fegato" è stato eseguito prelevando 5 aliquote con peso minimo di 100 g, al fine di ottenere un campione globale di 500g come specificato nel DPR n. 327 del 26 marzo 1980.

Ciascuna aliquota prelevata è stata inserita in sacchetti di plastica impermeabili adatti a sopportare temperature di congelamento.

Al fine di eseguire un idoneo campionamento, è stata utilizzata una bilancia elettronica presente nello stabilimento per controllare il raggiungimento del peso minimo richiesto.

Dopo tale accorgimento, il Veterinario Ufficiale ha inserito ciascuna delle 5 aliquote in contenitori inviolabili. Tali buste presentano l'interno di colore nero per impedire l'infravisione, due ricevute staccabili contenenti codice a barre a numerazione consecutiva unica, saldatura laterale doppia e chiusura di sicurezza anti-manomissione.

La stessa procedura è stata eseguita per il prelievo delle matrici "muscolo" e "tessuto adiposo". Per quest'ultimo è stato scelto di prelevare il grasso perirenale, come suggerito nel PNR del 2010 e 2011.

In merito alla matrice "urina" è stato necessario prelevare un campione totale di 150/250 ml al fine di ottenere, anche in questo caso, 5 aliquote costituite da 30-50 ml ciascuna. Per il prelievo, effettuato direttamente dalla vescica, è stata utilizzata una siringa sterile monouso. L'urina appena raccolta, è stata inserita in idonei contenitori di plastica a uso alimentare che, come suggerito dal piano nazionale, presentano un doppio tappo per la



chiusura a cui apporre il sigillo di piombo e risultano idonei al congelamento. Le 5 aliquote ottenute, sono state a loro volta inserite in altrettante buste antimanomissione già descritte in precedenza.

In merito al monitoraggio mediante analisi istologiche, gli organi campionati sono stati per ciascun capo: timo, tiroide, prostata e ghiandole Bulbo-Uretrali. I prelievi sono stati tempestivamente inseriti in contenitori ermetici contenenti formalina al 10%.

#### **4.1.2.4 Il verbale di prelievo e l'invio al laboratorio**

Subito dopo l'esecuzione del campionamento, il Veterinario Ufficiale, coadiuvato dal personale tecnico, ha provveduto alla compilazione dei verbali previsti dal PNR.

In merito ai campionamenti eseguiti per le attività inerenti il “Piano” propriamente detto è stato utilizzato l'apposito verbale predisposto dall'Azienda Usl 11 di Empoli. In tale documento sono state inserite tutte le informazioni richieste dal Piano Nazionale per la ricerca dei Residui, ed in particolare: numero di verbale, con Regione e AUSL di appartenenza; data, ora e sede del prelievo; verbalizzanti e loro qualifica; capo campionato e, nello specifico, specie, categoria/età, razza, sesso, numero marca auricolare o tatuaggio, azienda di origine e appartenenza compreso il paese d'origine; proprietario; numero campioni prelevati, aliquote, tipo di matrice ed esami richiesti. Il verbale compilato in ogni sua parte, è stato letto e firmato, oltre che dal personale addetto al prelievo, dal proprietario del capo, se presente, e dal responsabile dello stabilimento di macellazione.

Come indicato dal PNR, anche i campioni prelevati per l'esecuzione del test di *screening* istologico sono stati seguiti dalla compilazione di appositi verbali. Oltre alle informazioni inerenti sito e data di prelievo, capo campionato e azienda di provenienza, sono state inserite, conformemente alle richieste del Ministero, le informazioni inerenti la visita *post-mortem* ed in particolare quelle riguardanti eventuali alterazioni a carico di organi bersaglio prelevati.

I campioni prelevati, debitamente scortati dal verbale di prelievo, sono stati trasferiti, in condizioni di refrigerazione e con celerità, presso l'Istituto

Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana Sezione di Firenze per l'esecuzione delle analisi.

Dai dati in possesso, tutti i campioni inviati al laboratorio sono risultati conformi e pertanto accettati dall'Istituto, che ha provveduto all'esecuzione delle analisi, o, in caso non disponesse di metodiche accreditate e validate, all'invio presso altro laboratorio attrezzato.

#### **4.2 Programmazione 2010 2011 delle sostanze da ricercare e capi da campionare**

In base alla programmazione nazionale, regionale e alle disposizioni dell'Az. USL 11 di Empoli, sono state effettuate, presso il macello di San Miniato, negli anni 2010 e 2011, rispettivamente 22 e 28 campionamenti inerenti l'attività di "Piano" e 8 e 5 campionamenti da destinare al "Piano di monitoraggio mediante test istologico".

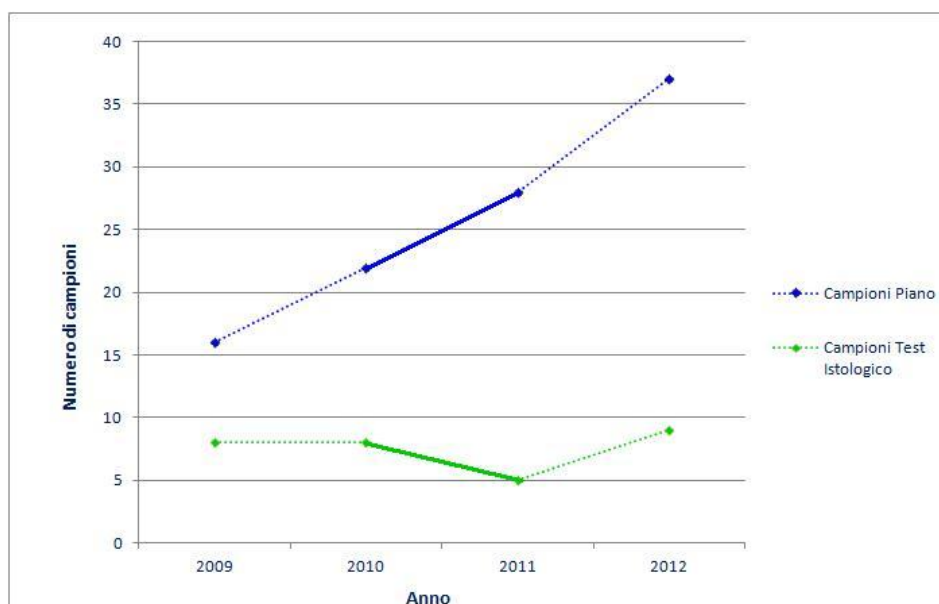
La percentuale di attività, rappresentata dal rapporto tra il numero di campioni eseguiti in merito al "Piano" propriamente detto e il numero dei programmati, è pari al 100% nel biennio in considerazione.

In aggiunta, sono stati eseguiti tutti i campionamenti richiesti in merito al piano di monitoraggio mediante test istologico.

Nel 2011, il numero dei campioni programmati ed eseguiti, in merito all'attività di "Piano" ha visto un aumento rispetto al 2010, pari al 27,28%. Il numero dei prelievi al fine del monitoraggio istologico, al contrario, ha visto un decremento del 37,5% rispetto al 2010.

Ai fini di un'analisi dei dati più approfondita, nel grafico inerente il numero di campioni prelevati per all'attività di "Piano" e per il test istologico, sono stati inseriti i dati relativi all'anno precedente e a quello successivo rispetto al biennio in esame (Grafico 8).

Grafico 8: Andamento numero dei campioni – 2009-2012



Come si nota, il numero dei campioni per la ricerca dei residui si presenta in continua crescita. Considerando che i dati inerenti le macellazioni effettuate nel biennio in esame mostrano una diminuzione, seppur minima, delle macellazioni avvenute ed al contrario i campionamenti complessivi (bovini e suini) da effettuare risultano in aumento, possiamo riferire che i controlli inerenti i residui risultano, in generale, più frequenti.

A conferma di ciò, nel 2010, sul totale degli animali macellati, appartenenti alle specie suina e bovina, sono stati sottoposti a campionamento mirato circa un soggetto su 458, mentre nel 2010 uno su 356.

In merito alla sola specie bovina, è stato sottoposto a prelievo un soggetto su 308 nel 2010, mentre, per il 2011, il controllo è stato effettuato ad un animale su 219.

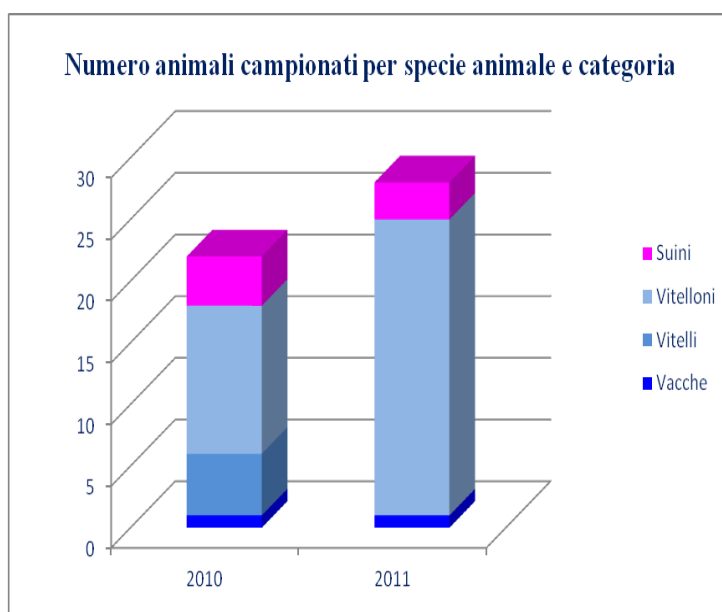
Il decremento (1%) delle macellazioni di suini interessa, in contrapposizione, anche il numero dei campionamenti effettuati in questa specie: nel 2010 è stato campionato un suino su 1135 capi, mentre nel 2011 circa uno su 1499.

L'andamento del numero di prelievi per il test istologico, pur presentando un decremento nell'anno 2011, con l'esecuzione di soli 5 campioni, ritorna ad allinearsi con quelli degli anni precedenti nella programmazione per l'anno in corso.

Il Grafico 10 riferisce il numero di animali sottoposti a campionamento per anno, la loro specie e la categoria di appartenenza.

A fronte di un aumento complessivo dei campionamenti, è diminuito il numero dei prelievi nella specie suina: da 4 prelievi nel 2010 si è passati a 3 nel 2011. Come si può notare, nel 2011, non è stata programmata alcuna attività inerente il PNR sui vitelli, mentre l'anno precedente sono stati indagati 5 soggetti di questa categoria. Ciò è giustificato dal ridotto numero di macellazioni di bovini di età inferiore agli 8 mesi presso il sito in esame e dalla conseguente decisione di limitare i prelievi in questa categoria.

Grafico 9: Numero animali campionati per specie animale e categoria - biennio 2010-2011



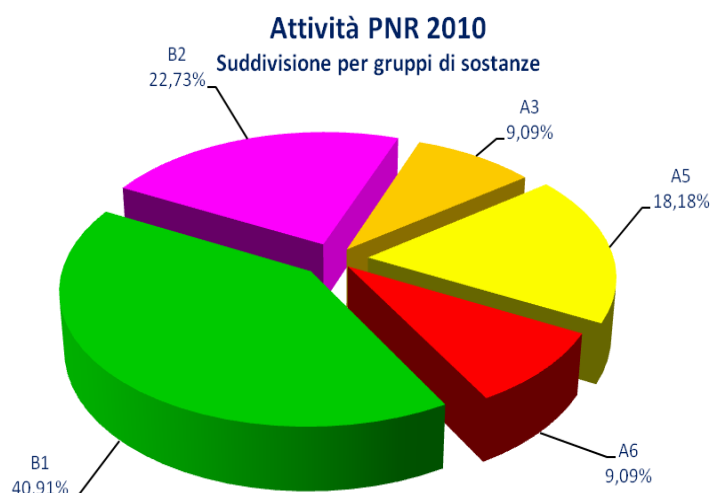
La tabella 12 riporta, suddivisi per anno, i numeri di campioni da effettuare nella specie bovina e suina delle sostanze da ricercare, raggruppate secondo la classificazione presente nell'Allegato I del D. Lgs. n. 158/2006.

Tabella 12: Sostanze ricercate raggruppate per Categoria negli anni 2010 e 2011

<b>CATEGORIA A</b>			
<b>SOSTANZE AD EFFETTO ANABOLIZZANTE E SOSTANZE NON</b>		<b>2010</b>	<b>2011</b>
<b>AUTORIZZATE</b>			
1) Stilbeni, loro derivati e loro sali ed esteri			
2) Agenti antitiroidei			
3) Steroidi			
boldenone			1
cortisonici	2		3
4) Lattoni dell'acido resorcilico			
zeranolo e metaboliti			1
5) $\beta$ -agonisti			
clenbuterolo e clenbuterolo simili	4		3
6) Sostanze incluse nell'All. IV del Regolamento (CEE) n. 2377/90 [ora abrogato dal Regolamento (CE) n. 470/2009 e Regolamento (UE) n. 37/2010]			
clorpromazina	1		
nitrofurani e metaboliti nitrofurani	1		1
cloranfenicolo			1
<b>CATEGORIA B - MEDICINALI VETERINARI E AGENTI CONTAMINANTI</b>			
		<b>2010</b>	<b>2011</b>
1) Sostanze antibatteriche, compresi sulfamidici e chinolonici			
antibiotici e sulfamidici	8		6
tilosina			1
chinolonici	1		
2) Altri prodotti medicinali veterinari			
a) antelmintici			
ivermectina e avermectine	2		1
benzimidazolici e tioimidazolici	1		2
b) coccidiostatici, compresi i nitroimidazoli			
c) carbammati e piretroidi			
carbammati e piretroidi	1		1
d) tranquillanti			
promazina	1		2
e) antinfiammatori non steroidei (AINS)			
f) altre sostanze esercitanti un'attività farmacologia			
3) Altre sostanze e agenti contaminanti per l'ambiente			
a) composti organoclorurati, compresi i PCB			
diossina			1
policlorobifenili			1
b) composti organofosforati			
c) elementi chimici			
piombo			2
cadmio			1
d) micotossine			
e) coloranti			
f) altri			

In merito alle categorie di residui da ricercare, si nota che per l'anno 2010, (Grafico 10) circa il 40,91% dei campioni è stato destinato alla ricerca delle sostanze inserite nel gruppo B1 (sostanze antibatteriche, compresi i sulfamidici e chinolonici); a seguire troviamo il gruppo B2 (altri prodotti medicinali veterinari) con circa il 22,73% e il gruppo A5 (beta-agonisti) con circa il 18,18%. Il gruppo degli steroidi (A3) e le sostanze incluse nell'Allegato IV del Regolamento (CEE) n. 2377/90 hanno riguardato solamente il 9,09% dei campioni prelevati. Non sono state eseguite analisi per i gruppi A1, A2, A4 e B3.

Grafico 10: Sostanze ricercate in bovini e suini nelle attività "Piano" 2010 suddivise per gruppo



Nell'anno 2011 il 25% dei campioni è stato destinato alla ricerca delle sostanze inserite nel gruppo B1 (sostanze antibatteriche, compresi i sulfamidici e chinolonici); a seguire troviamo il gruppo B2 (altri prodotti medicinali veterinari) con circa il 21,43% e il gruppo B3 (altre sostanze e contaminanti per l'ambiente) con il circa il 17,86%. I residui appartenenti al gruppo degli steroidi (A3) sono stati ricercati nel 14,29% dei campioni e le sostanze incluse nell'Allegato IV del Regolamento (CEE) n. 2377/90 (A6) nel 7,14%, A5 nel 10,71% e A4 nel 3,75%. Non sono state eseguite analisi per i gruppi A1 e A2 (Grafico 11).

Grafico 11: Sostanze ricercate in bovini e suini nelle attività “Piano” 2011 suddivise per gruppo



Confrontando i dati inerenti i due anni in analisi, si nota una considerevole diminuzione della percentuale dei campionamenti destinati alla ricerca di delle sostanze antibatteriche, compresi sulfamidici e chinolonici (da 40,9% a 25%) e dei beta-agonisti (18,18% a 10,71%). La percentuale diminuisce anche in merito ai campionamenti effettuati per le sostanze incluse nell'Allegato IV del Regolamento (CEE) n. 2377/90, ma, in questo caso la differenza tra i due valori risulta inferiore al 2%. Nel corso del 2011 sono aumentati i campioni per la ricerca degli steoidi (A3) ed è stata inserita la ricerca di “Altre sostanze e agenti contaminanti per l'ambiente” del gruppo B3 con una percentuale del 14,29%. Tale inserimento nella programmazione da eseguire presso lo stabilimento in esame, rispecchia l'aumento proporzionale dei campionamenti programmati a livello nazionale per i contaminanti ambientali, in particolare organoclorurati e PCB, contemplato nel PNR del 2011 per la specie bovina.

### **4.3 Risultati relativi all'attività dei “Piano” e “ Piano di monitoraggio mediante test istologico”**

In merito alle attività svolte nel biennio 2010-2011, in seguito al campionamento di tipo “Piano” non sono emerse positività analitiche.

Non sono state rilevate, attraverso quest'attività di sorveglianza, matrici con residui superiori ai LMR o presenza di sostanze non consentite a concentrazioni superiori i limiti di rilevabilità delle metodiche utilizzate come *screening*.

Inoltre, risulta necessario precisare che non sono state rilevate concentrazioni superiori ai limiti di rilevabilità anche per le sostanze autorizzate, che potrebbero far ipotizzare un trattamento farmacologico consentito, ma non dichiarato nei documenti che accompagnano obbligatoriamente l'animale al macello.

Anche l'attività di monitoraggio inerente l'esecuzione del test istologico di *screening* non ha rilevato casi dubbi o sospetti per anabolizzanti, steroidi, sostanze ormonali e beta-agonisti.

Solamente nel corso del 2008, a seguito dell'esecuzione di tale piano, due vitelloni di razza Limousine, di provenienza regionale, sono risultati dubbi per steroidi sessuali e cortisonici. I due soggetti non presentavano alterazioni di carattere macroscopico alla visita *post-mortem*, né turbe comportamentali durante la visita *ante-mortem*.

Nello specifico, il risultato dubbio fu riferito a seguito dell'esame istologico su prostata e ghiandole bulbo-uretrali, per gli steroidi sessuali, e sul timo per i cortisonici.

In seguito a tale reperto, vennero predisposti, dall'Az. USL di provenienza degli animali, gli opportuni accertamenti. A seguito di esami sierologici per la ricerca di ormoni steroidei effettuati su 16 bovini, non emersero non conformità.



#### **4.4 Gestione di positività a seguito di campionamento “Sospetto” “clinico-anamnestico”**

Oltre all'esecuzione delle attività programmate inerenti il campionamento di tipo “Piano”, il Veterinario Ufficiale, è tenuto ad eseguire, qualora si rilevino indizi che possono far sospettare la presenza di residui, tutte quelle operazioni descritte in precedenza in merito alla tipologia di piano su “Sospetto”.

Durante il biennio in esame, è stato necessario gestire un caso di positività per la presenza di residui, nello specifico ossitetraciclina, a seguito di un campionamento “Sospetto” “clinico-anamnestico”.

Nel giugno del 2010 è pervenuto presso il macello di San Miniato un capo bovino maschio, di razza Chianina, che, a causa di una paresi di origine traumatica al treno posteriore, è stato macellato d'emergenza.

All'arrivo il vitellone di 16 mesi era adeguatamente scortato da:

- ✓ “Documento di identificazione individuale per la specie bovina”;
- ✓ “Dichiarazione di provenienza e di destinazione degli animali (Mod.IV)”;
- ✓ “Dichiarazione ai sensi del Regolamento (CE) n. 853/2004 Allegato II, Sez. II (Informazioni pertinenti la catena alimentare)”;
- ✓ “Attestazione di idoneità al trasporto verso il macello di animali affetti da malattie o lesioni lievi (Allegato I, capo I, punto 3 Regolamento (CE) n. 1/2005)”.

In tale documentazione il detentore dell'animale dichiarava, in particolare, di non aver eseguito, nei 90 giorni precedenti, alcun trattamento farmacologico.

Durante la visita *post-mortem*, il Veterinario Ispettore ha rilevato una lesione a carico dei muscoli scheletrici del collo, riconducibile ad una iniezione pregressa (Figura 1).

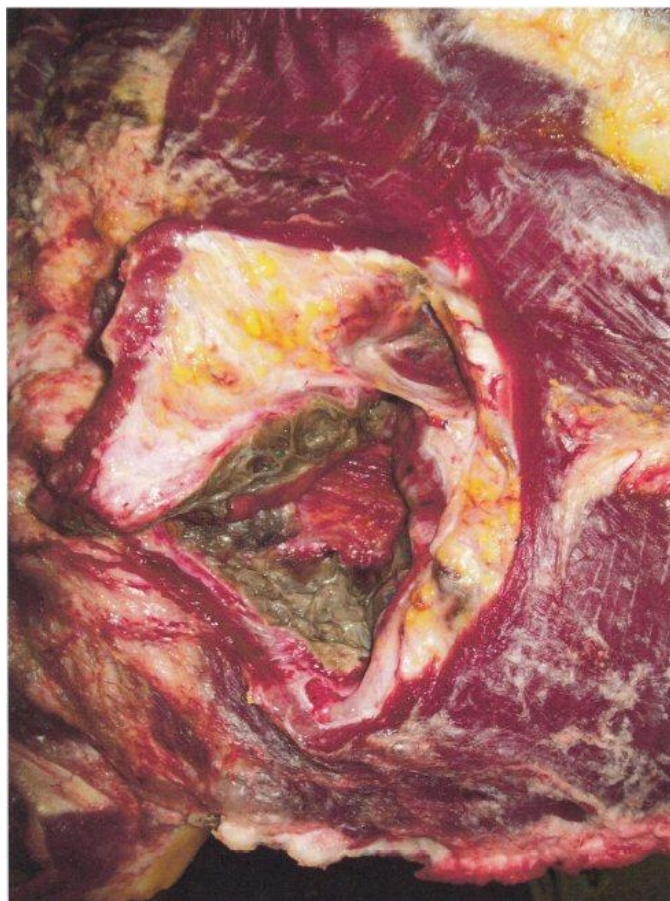
A seguito di tale rilevamento, è stato effettuato, a scopo conoscitivo, il campionamento di tessuto muscolare, rene e milza, in singola aliquota, al

fine di eseguire la ricerca di sostanze ad azione inibente e analisi microbiologiche.

I campioni, adeguatamente scortati dal verbale di prelievo, sono stati celermente inviati all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana Sezione di Firenze.

Due giorni dopo il prelievo, è pervenuto il rapporto di prova inerente il campionamento conoscitivo con singola aliquota: l'esame batteriologico ha dato esito negativo per tutte le matrici prelevate, mentre le analisi relative agli inibenti, nel tessuto muscolare, sono risultate "Non negative".

Figura 1: Bovino. Muscoli scheletrici del collo, miosite e pannicolite cronica gangrenosa focalmente estensiva associata ad aree di steatonecrosi da multifocali a confluenti.



Il Servizio Veterinario competente, ha provveduto quindi all'esecuzione di ulteriori campionamenti, in conformità a quanto richiesto dal Piano Nazionale per la ricerca di Residui negli animali e in alcuni loro prodotti.

Il Veterinario Ufficiale, coadiuvato da tecnici della prevenzione e in presenza del proprietario dell'animale, ha eseguito il campionamento di tessuto muscolare dal bovino sospetto per la ricerca di inibenti.

In questo caso il campione, prelevato in conformità a quanto richiesto dal PNR, è stato di tipo "Sospetto" "clinico-anamnestico".

Sono state pertanto prelevate 5 aliquote di tessuto muscolare di un peso medio di 250 g, ognuna delle quali è stata rispettivamente identificata con la lettera A, B, C, D, E. Ogni aliquota è stata inserita in una busta antimanomissione e firmata dai presenti al momento del prelievo.

Inoltre è stato redatto l'apposito verbale di prelievo in cui è stato specificato il tipo di campionamento effettuato.

Le aliquote, accompagnate dal verbale di prelievo debitamente compilato, sono state inviate al laboratorio d'analisi della Sezione di Firenze dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana. All'arrivo in laboratorio, il campione, correttamente eseguito e trasportato, è stato giudicato conforme dal personale addetto all'accettazione.

In attesa dei rapporti di prova ufficiali, la carcassa del vitellone è stata posta sotto vincolo sanitario ai sensi dell'art. 54, comma 2, punto b del Regolamento (CE) n. 882/2004, con divieto di immissione sul mercato; non essendo possibile il trasferimento, la custodia della carcassa è stata affidata al responsabile del sito di macellazione all'interno della cella frigorifera contumaciale. Inoltre il Veterinario Ufficiale ha provveduto ad apporre cartellini identificativi, con spago e piombo a schiaccio antimanomissione, riportanti la dicitura "Merce sequestrata-(Blocco-Vincolo Sanitario) a disposizione delle Autorità Competenti", gli estremi del verbale e le firme delle parti.

L'esame di *screening* per la ricerca di inibenti ha dato, come atteso, esito "Non Negativo"; per le analisi di conferma, il laboratorio di Firenze ha provveduto al trasferimento della matrice da analizzare presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Roma.

Solamente 6 giorni dopo l'esecuzione del campionamento ufficiale, sono state completate le analisi relative agli inibenti ed è arrivato il rapporto di analisi.

Dei 20 inibenti ricercati, tra cui amoxicillina, ampicillina, doxicillina, sulfadiazina e tetraciclina, l'ossitetraciclina è risultata superiore al limite di quantificazione ed in particolare il suo valore è stato di 123,7 µg/Kg.

Visto che il limite consentito per legge risulta essere per l'ossitetraciclina nel muscolo bovino di 100 µg/Kg (Regolamento (UE) n. 37/2010), le analisi hanno evidenziato non solo la presenza di residui di un farmaco non dichiarato in sede di macellazione, ma anche una concentrazione superiore al LMR consentito.

Per quanto rilevato e in accordo con le indicazioni fornite dal Ministero della Salute nel PNR, il Servizio Veterinario ha provveduto ad avvertire tempestivamente l'Azienda USL competente per territorio in cui è situato l'allevamento di provenienza del vitellone in esame.

Alla fine del giugno 2010, personale qualificato dell'U.O. Sanità Pubblica Veterinaria si è recato presso l'allevamento per l'esecuzione dell'indagine epidemiologica, come richiesto dal PNR.

E' stata pertanto eseguita una verifica della documentazione presente in azienda ed in particolare è stato controllato il registro aziendale dei trattamenti, la sua corretta compilazione con i farmaci acquistati, l'identificazione degli animali trattati con posologia, data inizio e fine trattamento e tempi di attesa da rispettare, nonché la presenza delle copie delle ricette del Medico Veterinario prescrittore.

Tale attività ha permesso di rilevare che, in base alle annotazioni riportate nel registro aziendale dei trattamenti farmacologici, il bovino in questione aveva subito un trattamento farmacologico nei 90 giorni precedenti l'invio alla macellazione con una specialità medicinale contenente ossitetraciclina; il tempo di attesa (tempo di sospensione), che per tale farmaco è di 21 giorni per la carne, risultava rispettato. Il proprietario riferiva inoltre di non aver compiuto altri trattamenti farmacologici sul bovino in questione.

Visto che la causa di non conformità risultava accertata, il personale non ha ritenuto necessario effettuare ulteriori campionamenti in azienda.

A seguito di tale verifica, è stata debitamente compilata la seconda parte del questionario sulle attività svolte conseguenti a non conformità e tutta la documentazione è stata recapitata al Servizio Veterinario competente per territorio dell’Az. USL 11 di Empoli.

A conclusione di tutta l’indagine, la carcassa è stata esclusa dal consumo umano e destinata, scortata da certificato sanitario attestante l’assenza di malattie infettive trasmissibili delle carni, all’alimentazione animale presso un giardino Zoologico.

Al proprietario dell’animale, per aver attestato falsamente sia nella dichiarazione di provenienza e di destinazione degli animali (Mod.IV), sia nella dichiarazione ai sensi del Regolamento (CE) n. 853/2004, Allegato II Sez. II (Informazioni pertinenti la catena alimentare), l’assenza di trattamenti nei 90 giorni precedenti l’invio al macello del bovino in questione, è stata contestata l’ipotesi di reato ai sensi dell’art. 483 del Codice Penale.

Tale articolo indica che “chiunque attesta falsamente al pubblico ufficiale, in un atto pubblico, fatti dei quali l’atto è destinato a provare la verità, è punito con la reclusione fino a due anni. Se si tratta di false attestazioni in atti dello stato civile, la reclusione non può essere inferiore a tre mesi”.

Questa “non conformità” non è stata l’unica avvenuta presso il macello di San Miniato: il Veterinario Ufficiale già in passato si era dovuto attivare per la gestione di simili non conformità.

A tal proposito, riportiamo la gestione di un caso di positività sempre a seguito di campionamento su “Sospetto” “clinico-anamnestico”.

Nel 2007 un altro bovino di origine francese, ma allevato nella provincia di Pisa, presentato nello stabilimento di San Miniato per la macellazione d’emergenza, presentava, ai lati del collo, tumefazioni riconducibili a pregresse iniezioni. Anche in questo caso, si è proceduto ad analisi conoscitive su fegato, rene e muscolo per la ricerca di inibenti e analisi microbiologiche.

Gli inibenti, questa volta, sono stati rilevati in fegato, reni e muscolo.

Si è proceduto quindi all’esecuzione del campionamento, secondo quanto indicato dal PNR: il proprietario del bovino, se pur convocato, non si è presentato il giorno del prelievo. Il campionamento è stato eseguito con le

stesse modalità descritte in precedenza, prelevando questa volta le matrici fegato e muscolo.

Le analisi del caso hanno confermato la presenza di residui superiori ai limiti consentiti.

Nel fegato l'ossitetraciclina, era presente ad una concentrazione di 1950 µg/Kg e la benzilpenicillina a 32,5 µg/Kg, mentre nel muscolo è stata rilevata la presenza di ossitetraciclina a 396 µg/Kg e una concentrazione di desametasone pari a 4,6 µg/Kg.

Tabella 11: Valori riscontrati nel bovino in esame e LMR in vigore

Residuo/Matrice	Bovino	LMR in vigore nel 2007
		Regolamento (CEE) n. 2377
Ossitetraciclina/Fegato	1950 µg/Kg	300 µg/Kg
Ossitetraciclina/Muscolo	396 µg/Kg	100 µg/Kg
Benzilpenicillina/Fegato	32,5 µg/Kg	50 µg/Kg
Desametasone/Fegato	4,6 µg/kg	2 µg/kg

Secondo la normativa in vigore in quel periodo, risultavano superati i LMR per l'ossitetraciclina nel fegato e nel muscolo e per il desametasone nel fegato.

L'intera carcassa è stata esclusa dal consumo umano e smaltita conformemente al Regolamento (CE) n. 1774/2002.

Anche in questo caso, sono state avviate le indagini presso l'azienda di provenienza del capo macellato, in seguito alle quali si è concluso che non sono stati dichiarati i trattamenti eseguiti nei novanta giorni precedenti l'invio dell'animale alla macellazione e non sono stati rispettati i tempi di sospensione. Pertanto è stata contestata al proprietario la violazione dell'art. 14, comma 3, lettera b del D. Lgs. n. 158 del 2006, inerente l'obbligo da parte del responsabile d'azienda di commercializzare solamente animali per i quali sia stato rispettato il tempo di sospensione prescritto, e l'art. 15, comma 6, lettera d, che sancisce l'obbligo di dichiarazione del titolare dell'allevamento dei trattamenti effettuati sugli animali nei novanta giorni precedenti l'invio al macello.

## 5 Conclusioni

Presso il macello di San Miniato, in applicazione ai Piani Nazionali per la ricerca dei Residui, ed in base alla programmazione regionale e locale, sono stati programmati, negli anni 2010 e 2011, rispettivamente 22 e 28 campionamenti nell'ambito del "Piano" propriamente detto nella specie bovina e suina e 5 e 8 campionamenti da destinare al monitoraggio mediante test istologico. Confrontando i dati di attività dei due anni, si evidenzia un aumento del 27,28% dell'attività "Piano".

A fronte di una diminuzione, seppur minima, delle macellazioni di bovini, si riscontra un aumento dei campionamenti a carico di questa specie. Per la specie suina, la diminuzione del numero di macellazioni è stata seguita da una diminuzione del numero dei campionamenti.

Le modalità di scelta dei capi e delle partite da campionare, comprese le modalità di prelievo, risultano conformi a quanto richiesto dal PNR.

In merito alla distribuzione mensile delle attività svolte, non si evidenzia la scelta di giorni particolari del mese per l'esecuzione dei campionamenti. Si nota che, pur non essendo stati scelti giorni particolari della settimana, i campionamenti si sono concentrati nei giorni di martedì e mercoledì, che hanno visto l'esecuzione di più della metà delle attività.

Non sono stati eseguiti campionamenti nei mesi di gennaio, giugno e dicembre in entrambi gli anni. Pertanto la distribuzione dei campionamenti non risulta omogenea: tale riscontro risulta in linea con le criticità riscontrate nella relazione del PNR 2010.

In entrambi gli anni, la categoria maggiormente ricercata è rappresentata da quella delle sostanze antibatteriche, compresi sulfamidici e chinolonici, a seguire quella degli altri prodotti medicinali veterinari. In base ai risultati disponibili (relazione PNR, 2010), anche a livello nazionale la categoria maggiormente ricercata è quella delle sostanze antibatteriche (B1), ma al secondo posto troviamo i beta-agonisti. L'inserimento della ricerca delle sostanze del gruppo B3, avvenuta nella programmazione del 2011, risulta in linea con l'aumento relativo dei campionamenti nella specie bovina in merito alla ricerca di composti organoclorurati, compresi i PCB, programmato nel PNR del 2011.

Le attività inerenti il “Piano” propriamente detto e il “Piano di monitoraggio mediante test istologico ” non hanno rilevato nessuna non conformità; in merito all’attività su “Sospetto” è stata riscontrata, confermata e gestita una non conformità su un capo appartenente alla specie bovina.

Considerando quanto riportato, risulta necessario sottolineare l’importanza, ai fini di una corretta esecuzione della attività connesse alla ricerca dei residui in animali e alimenti che da essi derivano, della comunicazione tra i vari organi coinvolti. La gestione della positività riscontrata nel corso del biennio non avrebbe potuto essere efficace senza un’opportuna collaborazione e comunicazione tra Istituto Zooprofilattico Sperimentale, Servizi Veterinari competenti per l’azienda di provenienza dell’animale e Servizi Veterinari competenti per il sito di macellazione.

Inoltre, la costante e puntuale rendicontazione di tutte le attività eseguite nell’ambito del PNR, alla Regione, al Ministero e alla Commissione europea, permette agli organismi preposti di apportare quelle fondamentali modifiche affinché il piano di monitoraggio e sorveglianza dei residui negli animali e negli alimenti da essi derivati risulti efficace e sempre al passo con i tempi.



## 6 Bibliografia

Angeletti R. (1995): Analisi chimiche per il controllo degli alimenti di origine animale: finalità e organizzazione. <http://www.ifne.it/consultazione/archivio/angeletti/angeletti.html>.

Biolatti B., Cabassi E., Castagnaro M., Rosmini R., Groot M., Benevelli R., Gilioli G., Ghizzinardi A., Mazzini C., Giorgi P., Comellini F., Alberghini L., Zancanaro G., Cannizzo T., Amedeo S., Poppi L., Cantoni A. (2003): Lo *screening* istologico nella prevenzione dell'uso di anabolizzanti nel bovino. Large Animals Review, 2, 9-19.

Bozzetta E., Pezzolato M., Maurelle C., Varello K., Capra P., Meloni D., Bellino C., Borlatto L., Caramelli M. (2010): L'istologia come metodo di *screening* per il rilievo di trattamento illecito con estrogeni nei vitelli. Large Animals Review, 16, 107-111.

Caroli S. (2002): La rete dei laboratori comunitari e nazionali di riferimento per i residui Laboratorio di Tossicologia Applicata. Ann. Ist. Super. Sanità, 38 (1), 69-76.

Cini C., Carosi M., Figà-Talamanca I. (2006): Residui negli alimenti: i rischi per la salute umana. Dossier Metes Salute e Sicurezza. <http://www.fondazionemetes.it/attachments/article/161/residuialiment.pdf>.

Circolare Ministeriale n. 12 dell'8 febbraio 1988: Piani per il controllo dei residui di sostanze ormonali e anabolizzanti ed antiormonali negli animali e nelle carni in attuazione della Direttiva n. 86/469/CEE del 16/09/1986. Ministero della Sanità, Dir.Gen.Serv.Vet. VII, Prot.600.7/24490/AG.7/899.

Circolare Ministeriale n. 14 del 29 settembre 2000: Linee guida applicative del D. Lgs. n. 336 del 4 agosto 1999. Gazzetta Ufficiale n. 268 del 16/11/2000.

Cocumelli C., Eleni C., Aquilini E., Sala M., Scaramozzino P. (2009): Piano Nazionale Residui-Test istologico: l'esperienza di un anno nelle Regioni

Lazio e Toscana. XI Congresso Nazionale S.I.Di.L.V. Parma 30/09/2009-02/10/2009. [http://195.45.99.79/csra/documenti\\_allegati/sidilv/residui.pdf](http://195.45.99.79/csra/documenti_allegati/sidilv/residui.pdf).

Decisione 2003/181/CE della Commissione del 13 marzo 2003 che modifica la decisione 2002/657/CE per quanto concerne la fissazione dei limiti minimi di rendimento richiesti (LMRR) per certi residui negli alimenti di origine animale. Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea n. L71/17 del 15/03/2003.

Decisione 2004/25/CE della Commissione del 22 dicembre 2003, che modifica la decisione 2002/657/CE per quanto concerne la fissazione dei limiti minimi di rendimento richiesti (LMRR) per certi residui negli alimenti origine animale. Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee n. L006 del 10/01/2004.

Decisione della Commissione 98/179/CE del 23 febbraio 1998, recante modalità d'applicazione per il prelievo ufficiale di campioni al fine della sorveglianza su talune sostanze e sui loro residui negli animali vivi e nei prodotti di origine animale. Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee n. L65 del 5/03/1998.

Decisione della Commissione 2002/657/CE del 12 agosto 2002, che attua la direttiva 96/23/CE del Consiglio relativa al rendimento dei metodi analitici e all'interpretazione dei risultati. Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee L221 del 17/08/2002.

Decreto del Presidente della Repubblica n. 327 del 26 marzo 1980: Regolamento di esecuzione della L. 30 aprile 1962, n. 283, e successive modificazioni, in materia di disciplina igienica della produzione e della vendita delle sostanze alimentari e delle bevande. Gazzetta Ufficiale n. 193 del 16/07/1980.

Decreto Legislativo n. 149 del 10 maggio 2004: Attuazione delle direttive 2001/102/CE, 2002/32/CE, 2003/57/CE e 2003/100/CE, relative alle sostanze ed ai prodotti indesiderabili nell'alimentazione degli animali. Gazzetta Ufficiale n. 139 del 16/06/2004.

Decreto Legislativo n. 193 del 6 aprile 2006: Attuazione della direttiva 2004/28/CE recante codice comunitario dei medicinali veterinari. Gazzetta Ufficiale n. 121 del 26/05/2006.

Decreto Legislativo n. 232 del 9 novembre 2007: Modifiche al decreto legislativo 16 marzo 2006, n. 158, recante attuazione della direttiva 2003/74/CE sul divieto di utilizzazione di talune sostanze ad azione ormonica, tireostatica e delle sostanze beta-agoniste nelle produzioni animali. Gazzetta Ufficiale n. 291 del 15/12/2007.

Decreto Legislativo n. 336 del 4 agosto 1999: Attuazione delle direttive 96/22/CE e 96/23/CE concernenti il divieto di utilizzazione di talune sostanze ad azione ormonica, tireostatica e delle sostanze (beta)-agoniste nelle produzioni di animali e le misure di controllo su talune sostanze e sui loro residui negli animali vivi e nei loro prodotti. Gazzetta Ufficiale n. 230 del 30/09/1999.

Decreto Legislativo n. 158 del 16/03/2006: Attuazione della direttiva 2003/74/CE, concernente il divieto di utilizzazione di talune sostanze ad azione ormonica, tireostatica e delle sostanze beta-agoniste nelle produzioni animali. Gazzetta Ufficiale n. 98 del 28/04/2006.

Decreto Ministeriale 20 aprile 1978: Modalità di prelevamento dei campioni per il controllo ufficiale degli alimenti per gli animali. Gazzetta Ufficiale n. 165 del 15/06/1978.

Decreto Ministeriale del 10 gennaio 2007: Attuazione della direttiva 2006/13/CE della Commissione, che modifica la direttiva 2002/32/CE, relativamente alle sostanze indesiderabili nell'alimentazione degli animali. Gazzetta Ufficiale n. 96 del 26/04/2007.

Decreto Ministeriale del 14 novembre 1996: Determinazione dei livelli fisiologici massimi degli ormoni sessuali di natura endogena estradiolo 17 beta, progesterone e testosterone nel siero o nel plasma di sangue bovino. Gazzetta Ufficiale n. 24 del 30/01/1997.

Decreto Ministeriale del 15 gennaio 1969: “Divieto per gli allevatori di detenere o somministrare agli animali sostanze ad attività ormonale ed antiormonale”. Gazzetta Ufficiale n. 16 del 20/03/1969.

Decreto Ministeriale del 3 novembre 1981: Divieto di vendita dei medicinali ad uso veterinario contenenti sostanze stilbeniche, loro derivati, sali ed esteri e sostanze tireostatiche. Gazzetta Ufficiale n. 314 del 14/11/1981.

Delibera della Giunta Regionale del Veneto n. 1412 del 06 settembre 2011: Piano di monitoraggio per il miglioramento della carne bovina in Veneto. Impegno di spesa. Bollettino Ufficiale della Regione del Veneto n. 71 del 20/09/2011.

Delli Quadri F., Marchiafava C. (2005): I sistemi di *screening* per il controllo dei residui. Workshop Residui negli alimenti di origine animale: analisi del rischio, prevenzione e sorveglianza. Workshop: Residui negli alimenti di origine animale: analisi del rischio, prevenzione e sorveglianza, Istituto Superiore di Sanità Roma, 19-20/12/2005. 15.<http://www.iss.it/binary/spva/cont/residui.1136285283.pdf>.

Direttiva 2001/82/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio del 6 novembre 2001, recante un codice comunitario relativo ai medicinali veterinari. Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee n. L311 del 28/11/2001.

Direttiva 2003/74/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio del 22 settembre 2003 che modifica la direttiva 96/22/CE del Consiglio concernente il divieto di utilizzazione di talune sostanze ad azione ormonica, tireostatica e delle sostanze  $\beta$ -agoniste nelle produzioni animali. Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea n. L262/17 del 14/10/2003.

Direttiva 81/602/CEE del Consiglio del 31 luglio 1981, concernente il divieto di talune sostanze ad azione ormonica e delle sostanze ad azione tireostatica. Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee n. L222 del 7/08/1981.

Direttiva 85/649/CEE del Consiglio del 31 dicembre 1985 concernente il divieto dell'utilizzazione di talune sostanze ad azione ormonica nelle produzioni animali. Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee n. L382 del 31/12/1995.

Direttiva 86/469/CEE del Consiglio del 16 settembre 1986 relativa alla ricerca di residui negli animali e nelle carni fresche. Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee n. L275 del 26/09/1986.

Direttiva 96/22/CE del Consiglio del 29 aprile 1996 concernente il divieto d'utilizzazione di talune sostanze ad azione ormonica, tireostatica e delle sostanze  $\beta$ -agoniste nelle produzioni animali e che abroga le direttive 81/602/CEE, 88/146/CEE e 88/299/CEE. Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee n. L125 del 23/05/1996.

Direttiva 96/23/CE del Consiglio del 29 aprile 1996, concernente le misure di controllo su talune sostanze e sui loro residui negli animali vivi e nei loro prodotti e che abroga le direttive 85/358/CEE e 86/469/CEE e le decisioni 89/187/CEE e 91/1664/CCE. Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee n. L125 del 23/05/1996.

Eurobarometro 2006: "Questioni di Rischio" Eurobarometro Speciale 238/Fase 64.1. TNS Opinion & Social, [http://ec.europa.eu/food/food/resources/special-eurobarometer\\_riskissues20060206\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/food/resources/special-eurobarometer_riskissues20060206_en.pdf)

Eurobarometro 2010: "Rischi associati agli alimenti" Eurobarometro Speciale 354/Fase 73.5. TNS Opinion & Social, [http://www.efsa.europa.eu/en/riskperception/docs/riskperceptionreport\\_it.Pdf](http://www.efsa.europa.eu/en/riskperception/docs/riskperceptionreport_it.Pdf)

Galarini R., Antonini C. (2006): "National Residues Plan: origin, purposes and evolution". Webzine Sanità Pubblica Veterinaria, n. 38, novembre 2006. <http://www.spvet.it/arretrati/numero-38/pnr.html>

Giardina C., (1960): Disegno di legge seduta del 19 luglio 1969 "Divieto dell'impiego degli estrogeni come fattori di crescita o di neutralizzazione

sessuale negli animali le cui carni e prodotti sono destinati all'alimentazione umana". [http://legislature.camera.it/\\_dati/leg03/lavori/stampati/pdf/23780001.pdf](http://legislature.camera.it/_dati/leg03/lavori/stampati/pdf/23780001.pdf)

Guidi E. (2009): Rischio chimico da diossine. Eurocarni, 2, 20.

Legge n. 4 del 3 febbraio 1961: "Divieto dell'impiego degli estrogeni come fattori di crescita o di neutralizzazione sessuale negli animali le cui carni e prodotti sono destinati all'alimentazione umana". Gazzetta Ufficiale n. 43 del 18/02/1961.

Moriconi E., (2012): Allevamenti intensivi: conseguenze ambientali, sociali, sanitarie, e per gli animali. <http://www.cattolicivegetariani.it/content/generale/allevamenti-intensivi-conseguenze-ambientali-sociali-sanitarie-e-per-gli-animali.html>.

Pertocchi S., (2008): Emanato il Piano Nazionale Residui per il 2009. [http://www.veterinarialimenti.marche.it/viewdoc.asp?CO\\_ID=3372](http://www.veterinarialimenti.marche.it/viewdoc.asp?CO_ID=3372).

Piano regionale di controllo dei residui indesiderati nelle carni e negli animali allevati (2006): Area di igiene degli allevamenti e delle produzioni zootecniche-Regione Piemonte, 185-193.

PNR (1993): Piano Nazionale 1993 per la ricerca dei residui negli animali e nelle carni in applicazione del D. Lgs. n. 118 del 27 gennaio 1992, e delle Circolari Ministeriali n. 12/88, 6/89 e 14/89. Ministero della Sanità, Dir. Gen. Serv. Vet. Div. VII, Prot 600.7/24490/AG.7.8/1158 del Febbraio 1993.

PNR (1996): Piano Nazionale 1996 per la ricerca dei residui negli animali e nelle carni in applicazione al D. Lgs. 27 gennaio 1992, n. 118. Ministero della Sanità, Dipartimento degli Alimenti e Nutrizione e della Sanità Pubblica Veterinaria Div. VII (V), Prot. 600.7/24490/AG.13/1486 del 26/02/1996.

PNR (1997): Piano Nazionale 1997 per la ricerca dei residui negli animali e nelle carni in applicazione al D. Lgs. 27 gennaio 1992, n. 118. Ministero della Sanità, Dipartimento degli Alimenti e Nutrizione e della Sanità

Pubblica Veterinaria Div.VII (V)., Prot. 600.7/24490/AG.13/1517 del 3/03/1997.

PNR (1998): Piano Nazionale 1998 per la ricerca dei residui negli animali e in alcuni prodotti di origine animale. Ministero della Sanità, Dipartimento degli Alimenti e Nutrizione e della Sanità Pubblica Veterinaria- Ufficio VIII.

PNR (1999): Piano Nazionale 1999 per la ricerca dei residui negli animali e in alcuni prodotti di origine animale Ministero della Sanità, Dipartimento degli Alimenti e Nutrizione e della Sanità Pubblica Veterinaria- Uff. VIII.

PNR (2000): Piano Nazionale 2000 per la ricerca dei residui negli animali e in alcuni prodotti di origine animale in applicazione del D. Lgs n. 336 del 4 agosto 1999. Ministero della Sanità, Dipartimento Alimenti Nutrizione e della Sanità Pubblica Veterinaria Uff. VIII, Prot. 600.8/24490/A.G. 13/4037.

PNR (2001): Piano Nazionale 2001 per la ricerca dei residui negli animali e in alcuni prodotti di origine animale. Ministero della Sanità, Dipartimento Alimenti Nutrizione e della Sanità Pubblica Veterinaria- Uff. VIII.

PNR (2005): Piano nazionale 2005 per la ricerca dei residui negli animali e in alcuni prodotti di origine animale. Ministero della Salute, Dipartimento della Prevenzione e della Comunicazione, Direzione Generale della Sanità Veterinaria e degli Alimenti Ufficio IX. <http://www2.vet.unibo.it/staff/ROSMINI/PNR%202005.pdf>.

PNR (2006): Piano nazionale 2006 per la ricerca dei residui negli animali e in alcuni prodotti di origine animale. Ministero della Salute, Dipartimento per la Sanità Pubblica Veterinaria, la Nutrizione e la Sicurezza degli Alimenti. [http://www.salute.gov.it/imgs/C\\_17\\_pubblicazioni\\_766\\_allegato.pdf](http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_766_allegato.pdf).

PNR (2007): Piano Nazionale per la ricerca dei Residui negli animali e nei prodotti di origine animale. Anno 2007. Ministero del Lavoro, della Salute e

delle Politiche Sociali, Direzione Generale della Sicurezza degli Alimenti e della Nutrizione Ufficio III. [http://www.salute.gov.it/imgs/C\\_17\\_pubblicazioni\\_930\\_allegato.pdf](http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_930_allegato.pdf).

PNR (2008): Piano Nazionale per la ricerca dei Residui negli animali e nei prodotti di origine animale. Anno 2008. Ministero della Salute, Dipartimento per la Sanità Pubblica Veterinaria, la Nutrizione e la Sicurezza degli Alimenti, Direzione Generale della Sicurezza degli Alimenti e della Nutrizione Ufficio III. [http://www.regione.veneto.it/NR/rdonlyres/86D888AC-88B6-4AF1-998B-6C04A8480592/0/PNR\\_2008.pdf](http://www.regione.veneto.it/NR/rdonlyres/86D888AC-88B6-4AF1-998B-6C04A8480592/0/PNR_2008.pdf).

PNR (2009): Piano Nazionale per la ricerca dei Residui negli animali e nei prodotti di origine animale. Anno 2009. Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Sociali, Dipartimento per la Sanità Pubblica Veterinaria, la Nutrizione e la Sicurezza degli Alimenti, Direzione Generale della Sicurezza degli Alimenti e della Nutrizione Ufficio III. <http://www.fnovi.it/docsOpener.php?fp=files%2FPNR+2009.pdf>.

PNR (2010): Piano Nazionale per la ricerca dei Residui negli animali e nei prodotti di origine animale. Anno 2010. Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Sociali, Dipartimento per la Sanità Pubblica Veterinaria, la Nutrizione e la Sicurezza degli Alimenti, Direzione Generale della Sicurezza degli Alimenti e della Nutrizione Ufficio III. <http://www.regione.veneto.it/NR/rdonlyres/63A33DCF-D8AD-444B-AA42-3113F62BA2AC/0/PNR2010.pdf>.

PNR (2011): Piano Nazionale per la ricerca dei Residui ai sensi del decreto legislativo del 16 aprile 2006, n. 158. Anno 2011. Ministro della Salute, Dipartimento per la Sanità Pubblica Veterinaria, la Nutrizione e la Sicurezza degli Alimenti, Direzione generale della Sicurezza degli Alimenti e della Nutrizione Ufficio III. <http://www.regione.veneto.it/NR/rdonlyres/2C4E6C76-40C6-4F53-BE6B-6657FED156EA/0/PNR2011.pdf>.

PNR (2012): Piano Nazionale per la ricerca dei Residui ai sensi del D. Lgs. n. 158 del 16 aprile 2006. Anno 2012. Ministro della Salute, Dipartimento della Sanità Pubblica Veterinaria, della Sicurezza Alimentare e degli Organi



Collegiali per la Tutela della Salute, Direzione Generale per l'Igiene e la Sicurezza degli Alimenti e la Nutrizione. [http://www.iss.it/binary/lnre/cont/PNR\\_2012.pdf](http://www.iss.it/binary/lnre/cont/PNR_2012.pdf).

Regolamento (CE) n. 1/2005 del Consiglio del 22 dicembre 2004, sulla protezione degli animali durante il trasporto e le operazioni correlate che modifica le Direttive 64/432/CEE e 93/119/CE e il Regolamento (CE) n. 1255/97. Gazzetta Ufficiale dell'Unione europea n. L003 del 05/01/2005.

Regolamento (CE) n. 124/2009 della Commissione del 10 febbraio 2009 che fissa i tenori massimi di coccidiostatici o istomonostatici presenti negli alimenti in conseguenza del carry-over inevitabile di tali sostanze in mangimi destinati a specie non bersaglio. Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea n. L40/7 del 11/02/2009.

Regolamento (CE) n. 152/2009 della Commissione del 27 gennaio 2009 che fissa i metodi di campionamento e d'analisi per i controlli ufficiali degli alimenti per gli animali. Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea n. L54 del 26/02/2009.

Regolamento (CE) n. 1774/2002 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 3 ottobre 2002 recante norme sanitarie relative ai sottoprodotti di origine animale non destinati al consumo umano. Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee n. L273/1 del 10/10/2002.

Regolamento (CE) n. 1881/2006 della Commissione del 19 dicembre 2006 che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari. Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea n. L364/5 del 20.12.2006.

Regolamento (CE) n. 396/2005 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 23 febbraio 2005 concernente i livelli massimi di residui di antiparassitari nei o sui prodotti alimentari e mangimi di origine vegetale e animale e che modifica la Direttiva 91/414/CEE del Consiglio. Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea n. L70/1 del 16/03/2005.

Regolamento (CE) n. 853/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio del 29 aprile 2004, che stabilisce norme specifiche in materia di igiene per gli alimenti di origine animale. Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea n. L139/55 del 30/04/2004.

Regolamento (CE) n. 882/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 29 aprile 2004, relativo ai controlli ufficiali intesi a verificare la conformità alla normativa in materia di mangimi e di alimenti e alle norme sulla salute e sul benessere degli animali. Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea n. L165 del 30/04/2004.

Regolamento (CEE) n. 2377/90 del Consiglio, del 26 giugno 1990, che definisce una procedura comunitaria per la determinazione dei limiti massimi di residui di medicinali veterinari negli alimenti di origine animale. Gazzetta Ufficiale n. L224 del 18/08/1990.

Regolamento (UE) n. 37/2010 della Commissione del 22 dicembre 2009 concernente le sostanze farmacologicamente attive e la loro classificazione per quanto riguarda i limiti massimi di residui negli alimenti di origine animale. Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea. n. L15/1 del 20/01/2010.

Regolamento (UE) n. 574/2011 della Commissione del 16 giugno 2011 che modifica l'allegato I della direttiva 2002/32/CE del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda i livelli massimi di nitrito, melamina, *Ambrosia spp.* e *carry-over* di alcuni coccidiostatici e istomonostatici e che consolida gli allegati I e II. Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea n. L159/7 del 17/06/2011.

Regolamento (UE) n. 875/2010 della Commissione relativo all'autorizzazione decennale di un additivo nell'alimentazione animale. Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea n. L263/4 del 06/10/2010.

Relazione Finale PNR (2009): Relazione finale Piano Nazionale Residui 2009. Ministero della Salute, Direzione Generale della Sicurezza degli Alimenti e della Nutrizione. [http://www.salute.gov.it/imgs/C\\_17\\_pubblicazioni\\_1296\\_allegato.pdf](http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_1296_allegato.pdf).

Relazione Finale PNR (2010): Relazione sui risultati dei controlli ufficiali svolti in attuazione del Piano Nazionale Residui 2010. Ministero della Salute Dipartimento della Sanità Pubblica Veterinaria, della Sicurezza Alimentare e degli Organi Collegiali per la Tutela della Salute, Direzione Generale per l'Igiene e la Sicurezza degli Alimenti e la Nutrizione. <http://www.salute.gov.it/sicurezzaAlimentare/pagina InternaMenuSicurezza Alimentare.jsp?id=1168&lingua=italiano&menu=chimica>.

Scardino G. (2007): La Farmacosorveglianza veterinaria e il Decreto Legislativo 6 aprile 2006 n. 193: "Attuazione della direttiva 2004/28/CE recante codice comunitario dei medicinali veterinari". Il progresso veterinario rivista on-line, 07, 303-305.

Signorini G., Biagi G., Lucchetti E., Nannipieri S., Marzotto G, Roncaia A. (2009): Residui negli alimenti di origine animale. Annuali Facoltà di Medicina Veterinaria di Parma, Vol.XXIX, 77-90.

## **ARTICOLI E SITI CONSULTATI**

Anagrafe Nazionale Zootecnica: Statistiche, Consistenza Stabilimenti di Macellazione Regione – TOSCANA, [http://statistiche.izs.it/portal/page?\\_pageid=73,12918&\\_dad=portal&\\_schema=PORTAL&op=view\\_rep&p\\_report=plet\\_rep\\_r6&p\\_liv=R&p\\_sigla\\_liv=090](http://statistiche.izs.it/portal/page?_pageid=73,12918&_dad=portal&_schema=PORTAL&op=view_rep&p_report=plet_rep_r6&p_liv=R&p_sigla_liv=090).

Naccari F. (2001): "La farmacovigilanza in medicina veterinaria", <http://www.farmacovigilanza.org/corsi/naccari/all.htm>.

Relazione Finale PNR (2007): Relazione finale Piano Nazionale Residui 2007, Ministero della Salute. Direzione Generale della Sicurezza degli Alimenti e della Nutrizione. [http://www.salute.gov.it /imgs/C\\_17\\_pubblicazioni\\_930\\_allegato.pdf](http://www.salute.gov.it /imgs/C_17_pubblicazioni_930_allegato.pdf).

Relazione Finale PNR (2008): Relazione Finale Piano Nazionale Residui 2008. Ministero della Salute. Direzione Generale della Sicurezza degli Alimenti e della Nutrizione. [http://www.salute.gov.it /imgs/C\\_17\\_pubblicazioni\\_1146\\_allegato.pdf](http://www.salute.gov.it /imgs/C_17_pubblicazioni_1146_allegato.pdf).

## 7 Ringraziamenti

Giunta al termine di questo lavoro desidero ringraziare ed esprimere la mia gratitudine nei confronti di tutte le persone che, in modi diversi, mi hanno permesso di raggiungere questo traguardo, per niente scontato.

I miei più sentiti ringraziamenti vanno a chi mi ha seguito nella realizzazione di questa tesi:

Alla Dott. Roberta Nuvoloni, per la continua disponibilità sia durante la realizzazione di questo lavoro, sia nei tre anni di Scuola;

Al Dott. Renzo Di Sacco, per aver reso possibile questo lavoro, per la sua immensa gentilezza, per la fiducia che fin da subito mi ha dimostrato e per avermi fornito consigli utili in ogni momento;

Al Dott. Primo Pastine, per avermi fornito materiale di “inestimabile valore” per la stesura di questa tesi, senza il quale non avrei potuto approfondire aspetti fondamentali;

A tutti i Veterinari e Tecnici che, durante il mio tirocinio, mi hanno supportato, se non sopportato. Un grazie particolare va alla Dott. Emma Cellesi, per la sua gentilezza, disponibilità e competenza. Rimarrà sempre con me il piacevole ricordo di tutti i giorni di tirocinio trascorsi con persone disponibili, semplici, gentili e allo stesso tempo professionali e competenti.

Un Grazie particolare a tutti i miei colleghi di corso. *Barbara, Simone, Andrea, Benedetto, Ranieri, Laura, Daniela e Valeria* grazie per aver reso questi anni di scuola unici.

Desidero inoltre ringraziare:

Il Prof. Salvo Rindi, per avermi accompagnato, anche se per troppo poco tempo, lungo questo percorso;

Il Direttore Daniela Gianfaldoni, per aver reso questo corso di formazione possibile.

In modo particolare, i miei più smisurati ringraziamenti vanno alla mia mamma e Giovanni, mia sorella, mio nonno e Filippo semplicemente per essere presenti nella mia vita e a tutte quelle persone, che pur non essendoci più, rimangono nei miei pensieri.